ผลของสารสกัดจากขิงและข่าและอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

นางสาวบัณฑิตา จิตตประไพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF GINGER AND GALANGA EXTRACTS AND DRYING TEMPERATURE ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN FILM

Miss Bantita Chittapraphai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2016
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดจากขิงและข่าและอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

โดย นางสาวบัณฑิตา จิตตประไพ

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.วาณี ชนเห็นชอบ)

บัณฑิตา จิตตประไพ : ผลของสารสกัดจากขิงและข่าและอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง (EFFECTS OF GINGER AND GALANGA EXTRACTS AND DRYING TEMPERATURE ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN FILM) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล, 108 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นและสถานะออกซิเดชันของสารสกัดจากขิงและข่า รวมทั้งผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง ในงานวิจัยนี้ได้แปรปริมาณของสารสกัดเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดเป็นสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์และสารสกัดที่ออกซิไดส์ พบว่าการเติมสารสกัดขิงในปริมาณ 5% ทำให้ความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) ของฟิล์มสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณของสารสกัดขิงเพิ่มขึ้นเป็น 10% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าพบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดในปริมาณ 2 และ 5% มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติมสารสกัดขิงในปริมาณเท่ากัน อย่างไรก็ตามการเติมสารสกัดข่าในปริมาณ 10% กลับทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมสารสกัดข่า 5% อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับสถานะออกซิเดชันที่ต่างกันของสารสกัดพบว่าโดยทั่วไปการเติมสารสกัดที่ออกซิไดส์ทำให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ สำหรับการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) แม้ว่าตัวอย่างที่เติมสารสกัดมีการยืดตัวถึงจุดขาดที่สูงกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในแง่สมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ พบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) ของฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงหรือข่ามีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ยกเว้นฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 10% ซึ่งมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ค่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีค่าสูงสุดในฟิล์มที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 10% ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility) ของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงหรือข่ามีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม ในด้านสมบัติเชิงแสง พบว่าความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) มีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น โดยสถานะออกซิเดชันของสารสกัดไม่มีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์มมากนัก สำหรับสมบัติด้านสีฟิล์มทุกตัวอย่างมีมุมสี (hue angle) อยู่ในช่วง 80-90 องศา ซึ่งเป็นมุมสีของสีเหลือง ส่วนความเข้มสี (chroma) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม ในการศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ในปริมาณ 5% และข่าที่ออกซิไดส์ในปริมาณ 5% ได้แปรอุณหภูมิการทำแห้งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิอื่นทั้งในฟิล์มโปรตีนที่เติมสารสกัดจากขิงและฟิล์มโปรตีนที่เติมสารสกัดจากข่า อย่างไรก็ตามพบว่าอุณหภูมิการทำแห้งไม่มีผลมากนักต่อการยืดตัวถึงจุดขาด สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำ และมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม นอกจากนี้ยังไม่ส่งผลต่อค่าความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่สำหรับโปรตีนที่เติมสารสกัดจากข่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ความโปร่งแสงของฟิล์มมีค่าต่ำกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อทำแห้งโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ (50 องศาเซลเซียส) แต่มีแนวโน้มลดต่ำลงเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส

ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต	....
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	....
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	....

5572228523 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORDS: PROTEIN FILM / GINGER / ALPINIA GALANGA / HOT AIR DRYING

BANTITA CHITTAPRAPHAI: EFFECTS OF GINGER AND GALANGA EXTRACTS AND DRYING TEMPERATURE ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN FILM. ADVISOR: ASST. PROF.THANACHAN MAHAWANICH, Ph.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF.CHALEEDA BOROMPICHAICHARTKUL, Ph.D., 108 pp.

This study aimed to investigate the effect of concentration and oxidation state of aqueous ginger and galanga extracts, as well as drying temperature, on properties of soy protein film. To examine the effect of ginger or galangal extract on properties of the film, the extract was added at three different levels (2, 5 and 10% by weight of protein), in either oxidized or unoxidized state. Tensile strength of the films added with 5% ginger extract was higher than that of the control ($p \leq 0.05$). However, the film added with 10% ginger extract demonstrated a lower tensile strength than those with 5% addition. The films added with 2 or 5% galanga extract was found to show higher tensile strength than the control and the films added with the same amount of ginger extract. However, 10% galanga extract addition resulted in a significant decrease in tensile strength, as compared to that added with 5% galanga extract ($p \leq 0.05$). Regarding to oxidation state of the extracts, the oxidized extracts were shown to be more efficient in improving tensile strength than the unoxidized ones. The films added with extract were shown to possess greater, but with no statistically difference, elongation at break as compared to the control ($p > 0.05$). Addition of ginger or galangal extract did not affect the film water vapor permeability, except for film added with 10% oxidized galanga extract which showed higher water vapor permeability than the control ($p \leq 0.05$). Film added with 10% oxidized galanga extract showed highest contact angle among all film samples. It was found that addition of ginger or galanga extract resulted in a decrease in transparency (as expressed in terms of %transmittance). Oxidation state posted a minimal effect on transparency of the film. In terms of color, hue angle of all film samples were found to be in the range of 80-90°, representing the yellow hue. Chroma was found to increase in extract-added samples. Total phenolic content, as determined by Folin-Ciocalteu assay, and antioxidant activity, as determined using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay, were found to be greater in extract-added films as compared to the control. To investigate the effect of drying temperature on the film properties, film added with either 5% oxidized ginger extract or 5% oxidized galanga extract was dried at 50, 60 and 70 °C. It was found that the films dried at 70 °C demonstrated the highest tensile strength, as compared to the films dried at other temperatures. However, elongation at break, water vapor permeability, water solubility and contact angle were minimally affected by drying temperature. Moreover, drying temperature did not affect transparency of the films added with ginger extract ($p > 0.05$). In the case of films added with galanga extract, those dried at 60 or 70 °C exhibited significantly lower transparency than those dried at lower temperatures ($p \leq 0.05$). Total phenolic content and antioxidant activity were found to increase in the films dried at lower temperature (50 °C). However, those properties tended to decrease when the films were dried at 60 and 70 °C.

Department:	Food Technology	Student's Signature	....
Field of Study:	Food Technology	Advisor's Signature	....
Academic Year:	2016	Co-Advisor's Signature	....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดีโดยความกรุณาและความสนับสนุนอย่างดียิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้สละเวลาอันมีค่าในการชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ตลอดจนดูแลเอาใจใส่และช่วยเหลือมาโดยตลอด รวมถึงให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์อันประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ ดร. อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ รองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชนเห็นชอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ ที่ให้ความรู้ พร้อมทั้งข้อเสนอแนะต่างๆ อันเป็นประโยชน์เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ สำหรับความอนุเคราะห์การใช้ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์

ขอขอบพระคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือวัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม รวมทั้งรองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชนเห็นชอบ และคุณภัทรินทร์ ลีลาภิวัฒน์ สำหรับคำแนะนำในการใช้เครื่องมือ

ขอขอบคุณ คุณอัญชนา อินสวาสดิ์ คุณนันทพร โพธิวุฒิคุณ คุณนนทชา ธนธรวรากุล และคุณบูรณัตร ศรีทองแท้ สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์คุณสมบัติฟิล์ม และการวิเคราะห์โปรตีน รวมถึงให้คำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำมาโดยตลอด รวมถึงเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านสำหรับการอำนวยความสะดวกและความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ น้องสาว และญาติพี่น้องที่คอยสนับสนุนเป็นกำลังใจมาตลอด จนสำเร็จลุล่วงในการทำงานวิจัยครั้งนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ...จ

กิตติกรรมประกาศ..ฉ

สารบัญ...ช

สารบัญตาราง...ญ

สารบัญรูป..ฑ

บทที่ 1 บทนำ..1

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์..3

2.1 ฟิล์มย่อยสลายได้ (biodegradable films)..............................3

2.2 ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง..4

2.3 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน..............................5

2.4 สารประกอบฟีนอลิก...12

2.5 ขิงและข่า..16

2.6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพ..........................16

บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย...................................19

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี...19

3.2 อุปกรณ์...20

3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....................................21

3.3.1 การเตรียมสารสกัดจากขิงและข่า....................................21

3.3.2 การศึกษาผลของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง..............22

3.3.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า..........33

3.3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ...33

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 34
4.1 ผลของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง 34
4.1.1 ความหนา 34
4.1.2 สมบัติเชิงกล 35
4.1.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ 39
4.1.4 ความสามารถในการละลายน้ำ 40
4.1.5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม 41
4.1.6 ความโปร่งแสง 43
4.1.7 สี (color) 45
4.1.8 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง 49
4.1.9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 49
4.1.10 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน 51
4.1.11 รูปแบบของแถบโปรตีน 53
4.2 ผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า . 55
4.2.1 ความหนา 55
4.2.2 สมบัติเชิงกล 56
4.2.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ 60
4.2.4 ความสามารถในการละลายน้ำ 61
4.2.5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม 63
4.2.6 ความโปร่งแสง 65
4.2.7 สี (color) 66
4.2.8 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง 68
4.2.9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 69

หน้า

4.2.10 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ... 71

4.2.11 รูปแบบของแถบโปรตีน ... 72

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง ... 74

รายการอ้างอิง ... 76

ภาคผนวก ... 85

ภาคผนวก ก ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์ ... 86

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี ... 87

ภาคผนวก ค กราฟเทียบมาตรฐาน ... 92

ภาคผนวก ง กราฟการทำแห้ง ... 93

ภาคผนวก จ ข้อมูลผลการทดลอง ... 96

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ ... 108

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 3. 1 ปริมาณวัตถุดิบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์ม 100 กรัม 22

ตารางที่ 3. 2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE* 32

ตารางที่ 4. 1 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 35

ตารางที่ 4. 2 CIE L*, a* และ b* ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง .. 46

ตารางที่ 4. 3 มุมสีและความเข้มสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง .. 47

ตารางที่ 4. 4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 52

ตารางที่ 4. 5 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส).................................. 56

ตารางที่ 4. 6 CIE *L**, *a**, *b** มุมสี และความเข้มสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 67

ตารางที่ 4. 7 CIE *L**, *a**, *b** มุมสี และความเข้มสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 67

ตารางที่ 4. 8 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 70

ตารางที่ 4. 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 70

ตารางที่ จ. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 96

ตารางที่ จ. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง .. 97

ตารางที่ จ. 3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 98

ตารางที่ จ. 4 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 99

ตารางที่ จ. 5 มุมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 100

ตารางที่ จ. 6 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง 101

ตารางที่ จ. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 102

ตารางที่ จ. 8 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 102

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ จ. 9 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 103

ตารางที่ จ. 10 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 103

ตารางที่ จ. 11 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 104

ตารางที่ จ. 12 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 104

ตารางที่ จ. 13 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)......... 105

ตารางที่ จ. 14 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)......... 105

ตารางที่ จ. 15 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 106

ตารางที่ จ. 16 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 106

ตารางที่ จ. 17 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส).. 107

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 18 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 107

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูปที่ 2. 1 ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ 7

รูปที่ 2. 2 กลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยฟอร์มาลดีไฮด์ 10

รูปที่ 2. 3 กลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยกลูทาราลดีไฮด์ 11

รูปที่ 2. 4 ปฏิกิริยาของกรดฟีนอลิกกับหมู่อะมิโนที่โซ่ข้างของสายพอลิเพปไทด์ 13

รูปที่ 2. 5 กลไกการกำจัดอนุมูลอิสระเพอร์ออกซีของสารประกอบฟีนอลิก 17

รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างฟิล์มควบคุม 25

รูปที่ 3. 2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า 26

รูปที่ 4. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด 36

รูปที่ 4. 2 โครงสร้างทางเคมีของ (ก) กาแลนกิน และ (ข) กรดเฟรูลิก 37

รูปที่ 4. 3 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิ-ไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด 39

รูปที่ 4. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด 40

รูปที่ 4. 5 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด........ 41

รูปที่ 4. 6 มุมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด 42

รูปที่ 4. 7 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) สารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) สารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง... 43

รูปที่ 4. 8 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด 44

รูปที่ 4. 9 ลักษณะปรากฏของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) สารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) สารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง... 48

รูปที่ 4. 10 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) สารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) สารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง ถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า........ 50

รูปที่ 4. 11 รูปแบบแถบโปรตีนของตัวอย่างควบคุม (Control) ฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) และสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) เข้มข้น 2 และ 5% และฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) และสารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) เข้มข้น 2 และ 5% โดย M คือ protein molecular weight markers 54

รูปที่ 4. 12 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 57

รูปที่ 4. 13 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 58

รูปที่ 4. 14 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)........ 59

รูปที่ 4. 15 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส).................................. 59

รูปที่ 4. 16 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 60

รูปที่ 4. 17 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 61

รูปที่ 4. 18 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 62

รูปที่ 4. 19 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 62

รูปที่ 4. 20 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 63

รูปที่ 4. 21 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 64

รูปที่ 4. 22 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 64

รูปที่ 4. 23 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส).. 65

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4. 24 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 66

รูปที่ 4. 25 ลักษณะปรากฏของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) 68

รูปที่ 4. 26 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) ถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า 69

รูปที่ 4. 27 รูปแบบแถบโปรตีนของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) (Rm) และอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งศึกษาโดยใช้ reducing SDS-PAGE และ non-reducing SDS-PAGE โดย M คือ protein molecular weight markers 73

รูปที่ ข. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu 88

รูปที่ ข. 2 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP 90

รูปที่ ข. 3 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป DPPH radical scavenging activity 91

รูปที่ ค. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry 92

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ ง. 1 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส........................... 93

รูปที่ ง. 2 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส........................... 93

รูปที่ ง. 3 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส........................... 94

รูปที่ ง. 4 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส........................... 94

รูปที่ ง. 5 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส........................... 95

รูปที่ ง. 6 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นกับระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส................................. 95

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคได้ตระหนักถึงปัญหาสิ่งแวดล้อมและความสำคัญของการจัดการขยะจึงได้หันมาให้ความสนใจในวัสดุบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้เพิ่มมากขึ้น (González *et al.*, 2011) ที่ผ่านมาได้มีงานวิจัยที่ศึกษาการนำพอลิเมอร์ชีวภาพจากธรรมชาติ (naturally occurring biopolymer) มาผลิตเป็นฟิล์มย่อยสลายได้ โปรตีนถั่วเหลืองเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งซึ่งมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มย่อยสลายได้เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอื่นๆ (Su *et al.*, 2010) โปรตีนถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิด ได้แก่ ไกลซินินและเบตา-คอนไกลซินิน ซึ่งเป็นโกลบูลาร์โปรตีน โปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์มเนื่องจากสามารถเกิดพันธะโควาเลนต์ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกทั้งในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลซึ่งจำเป็นต่อการเกิดเป็นโครงสร้างร่างแหของโปรตีน (Cho and Rhee, 2004) อย่างไรก็ตามฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองยังมีข้อจำกัดด้านความแข็งแรงเชิงกลซึ่งเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองยังไม่สามารถแข่งขันกับฟิล์มพลาสติกได้

ฟิล์มซึ่งผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติเด่นในด้านการต้านทานการซึมผ่านของออกซิเจนและไขมัน แต่พบว่ามีข้อจำกัดสำคัญทางด้านความแข็งแรงเชิงกลและการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำ (Chambi and Grosso, 2006; Kim *et al.*, 2002) โดยในระยะที่ผ่านมาได้มีความพยายามในการพัฒนาฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองให้มีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้นโดยส่งเสริมให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การใช้รังสี ความร้อน เอนไซม์ รวมถึงวิธีทางเคมี โดยสารเคมีที่เป็นที่นิยมคือสารกลุ่มแอลดีไฮด์ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการเชื่อมข้ามโปรตีนสูง อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มนี้มีข้อจำกัดในด้านความเป็นพิษ จึงได้มีความพยายามในการหาสารเชื่อมข้ามโปรตีนที่มีความปลอดภัยมากขึ้น สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่พบตามธรรมชาติมีความสามารถในการทำให้เกิดการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีน (Hoque *et al.*, 2011; Strauss and Gibson, 2004) ขิงและข่าเป็นพืชในตระกูล Zingiberaceae ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกตามธรรมชาติ (Cai *et al.*, 2004; Ghasemzadeh *et al.*, 2010) ซึ่งนอกจากจะมีศักยภาพนำมาใช้เพื่อปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองแล้ว สารประกอบฟีนอลิกส่วนเกินนอกเหนือจากส่วนที่ใช้เพื่อทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนรวมทั้งฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในขิงและข่ายังอาจทำให้ฟิล์มที่ได้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย (Chan *et al.*, 2011; Habsah *et al.*, 2000; Sabli *et al.*, 2012) ที่ผ่านมามีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีสถานะออกซิเดชันต่างกันอาจมีผลต่อความสามารถในการทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนอีกด้วย (Rawel *et al.*, 2002)

สำหรับกระบวนการทำแห้งฟิล์ม งานวิจัยในระยะที่ผ่านมาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมักใช้กระบวนการทำแห้งฟิล์มที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งกระบวนการดังกล่าวมีความเป็นไปได้ต่ำในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม

นอกจากนี้การใช้ความร้อนอาจสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน เนื่องด้วยในสภาวะที่เป็นด่าง ความร้อนสามารถเร่งให้เกิดการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ (thiol-disulfide exchange) ส่งผลให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างสายโปรตีนเพิ่มขึ้น (Gennadios *et al.*, 1996; Jangchud and Chinnan, 1999; Jensen, 1959) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นและสถานะออกซิเดชันของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง รวมทั้งศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ฟิล์มย่อยสลายได้ (biodegradable films)

จากความสนใจเกี่ยวกับการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและความจำเป็นในการจัดการขยะ ผู้ผลิตและผู้บริโภคต่างก็ให้ความสนใจในบรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพได้อย่างสมบูรณ์จึงไม่เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อม ฟิล์มย่อยสลายเพื่อการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นจะต้องมีสมบัติเช่นเดียวกับฟิล์มที่ใช้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์โดยทั่วไป กล่าวคือ มีสมบัติในการควบคุมการซึมผ่านของไอน้ำ ออกซิเจนและแก๊สอื่นๆ ไขมัน และสารระเหยอินทรีย์ (organic volatile) รวมทั้งทำหน้าที่ให้ความเสถียรเชิงโครงสร้าง (integrity) เพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ถูกห่อหุ้มอยู่ภายใน (Ghanbarzadeh and Oromiehi, 2008)

ฟิล์มย่อยสลายได้จากวัตถุดิบธรรมชาตินั้นสามารถผลิตได้จากพอลิเมอร์ชีวภาพหลายประเภท ได้แก่ พอลิแซกคาไรด์ โปรตีน และลิพิด

พอลิแซกคาไรด์ที่มีการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบผลิตฟิล์มย่อยสลายได้มีหลายชนิด เช่น เพกทิน เซลลูโลสและเซลลูโลสดัดแปร สตาร์ชและสตาร์ชดัดแปร ฟลาวร์ ไคโทซาน แอลจีเนต และคาราจีแนน (Dias *et al.*, 2010; Harper *et al.*, 2013; Kanatt *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2013; Mariniello *et al.*, 2003; Pelissari *et al.*, 2013) ฟิล์มพอลิแซกคาไรด์โดยทั่วไปมีความแข็งแรงปานกลาง มีสมบัติเด่นในด้านความสามารถในการต้านทานการซึมผ่านของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ แต่มีข้อจำกัดในด้านการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำเนื่องจากสมบัติที่ชอบน้ำของพอลิแซกคาไรด์

โปรตีนเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพอีกประเภทหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มย่อยสลายได้ โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งมีสมบัติทางเคมีที่ต่างกันไปตามหมู่ข้าง (side group) ของกรดอะมิโนนั้นๆ จากความหลากหลายหมู่เคมีที่เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีน ทำให้โปรตีนสามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันได้ด้วยพันธะและอันตรกิริยาทางเคมีต่างๆ ได้แก่ พันธะโควาเลนต์ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไอออนิก อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาลส์ ฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปมีความแข็งแรงปานกลางเช่นเดียวกับฟิล์มพอลิแซกคาไรด์ มีความสามารถในการต้านการซึมผ่านของไขมันและออกซิเจนที่ดีมาก แต่มีข้อจำกัดในด้านการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำอันเนื่องมาจากสมบัติที่ชอบน้ำของโปรตีน

โปรตีนหลายชนิดมีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์มจึงสามารถใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเป็นฟิล์มย่อยสลายได้ ตัวอย่างเช่น โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนถั่วลิสง โปรตีนไข่ขาว กลูเตน เจลาติน เวย์โปรตีน เคซีน และไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากสัตว์ต่างๆ (Ghanbarzadeh and Oromiehi, 2008; Hernández-Muñoz *et al.*, 2004a; Kunte *et al.*, 1997; Lim *et al.*, 1998; Ma et al., 2013; Rayner *et al.*, 2000; Soazo *et al.*, 2013)

ส่วนลิพิดนั้นเป็นกลุ่มของสารที่มีสภาพขั้ว (polarity) ต่ำจึงมีสมบัติไม่ชอบน้ำ โดยทั่วไปลิพิดมักไม่ถูกใช้ผลิตเป็นฟิล์มโดยตรง แต่นิยมใช้เป็นสารเคลือบที่ย่อยสลายได้ (biodegradable coating) นอกจากนี้อาจใช้ร่วมกับพอลิแซกคาไรด์หรือโปรตีนเพื่อผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิต จากสมบัติที่มีสภาพขั้วต่ำ ทำให้ลิพิดมีสมบัติในการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี (Fernandez *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2006; Monedero *et al.*, 2009; Pérez-Mateos *et al.*, 2009)

2.2 ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาฟิล์มย่อยสลายได้จากโปรตีนหลายชนิด รวมถึงโปรตีนอาหารทั้งจากพืชและจากสัตว์ โปรตีนถั่วเหลืองเป็นโปรตีนอาหารชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มย่อยสลายได้ (Dangaran *et al.*, 2009)

2.2.1 โปรตีนถั่วเหลือง

โปรตีนเป็นองค์ประกอบที่มีปริมาณมากที่สุดในเมล็ดถั่วเหลือง โดยมีมากถึงประมาณ 40.3% โดยน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองทั้งเมล็ด (whole soybean) (Wijeratne, 1993a) โปรตีนถั่วเหลืองมีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนเช่นเดียวกับโปรตีนจากสัตว์ และมีสมบัติเชิงหน้าที่หลากหลาย ทั้งความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ สมบัติในการอุ้มน้ำ การให้ความหนืดและความคงตัว การเกิดโฟม การเกิดเป็นเจล และการเกิดเป็นฟิล์ม (Zayas, 1997) โปรตีนถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิด ได้แก่ ไกลซินินและเบตา-คอนไกลซินิน ซึ่งเป็นโกลบูลาร์โปรตีน โปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์มเนื่องจากสามารถเกิดพันธะโควาเลนต์ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างหมู่เคมีต่างๆ ของหน่วยย่อยกรดอะมิโน ซึ่งอันตรกิริยาทางเคมีเหล่านี้จำเป็นต่อเสถียรภาพของโครงสร้างร่างแหของโปรตีน (Cho and Rhee, 2004)

พีเอชนับเป็นปัจจัยสำคัญต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนถั่วเหลืองเช่นเดียวกับโปรตีนอื่นๆ โดยจุดไอโซอิเล็กทริกซึ่งโปรตีนถั่วเหลืองมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุดมีค่าอยู่ในช่วงพีเอช 4.2-4.6 และเมื่อพีเอชห่างออกจากจุดไอโซอิเล็กทริก ความสามารถในการ

ละลายของโปรตีนถั่วเหลืองจะเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามที่พีเอชสูงหรือต่ำเกินไป ได้แก่ พีเอชต่ำกว่า 2 หรือสูงกว่า 9 โปรตีนถั่วเหลืองอาจเกิดการเสียสภาพและสูญเสียความสามารถในการละลายได้ (Wijeratne, 1993b)

2.2.2 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง

โปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์ม โดยโครงสร้างพื้นฐานที่จำเป็นต่อเสถียรภาพของฟิล์มคือโครงร่างแหของโปรตีนที่เกิดอันตรกิริยากันทั้งระหว่างโมเลกุลและภายในโมเลกุลของโปรตีน (inter- and intra-molecular interaction) (Park *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตาม โปรตีนหลักในถั่วเหลือง ซึ่งได้แก่ไกลซินินและเบตา-คอนไกลซินิน มีโครงสร้างถึงระดับจตุรภูมิ (quaternary structure) โดยโปรตีนถั่วเหลืองตามธรรมชาติจะมีการจัดเรียงตัวกันโดยกรดอะมิโนที่มีสมบัติชอบน้ำจะมีตำแหน่งอยู่ที่ด้านนอกและกรดอะมิโนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำรวมทั้งหมู่ซัลฟ์ไฮดริลจะมีตำแหน่งอยู่ที่ด้านในของโครงสร้างสามมิติของสายพอลิเพปไทด์ที่จัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างระดับทุติยภูมิ (tertiary structure) ตามที่กล่าวแล้วว่ามีอันตรกิริยาทางเคมีหลายประเภทที่จำเป็นต่อการเกิดเป็นโครงสร้างฟิล์มที่มีเสถียรภาพ ในการเตรียมสารละลายฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองจึงต้องให้ความร้อนแก่สารละลายโปรตีนเพื่อทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพบางส่วน (partially denatured) สายพอลิเพปไทด์เกิดการคลายตัว และหมู่ที่ไม่ชอบน้ำและหมู่ซัลฟ์ไฮดริลซึ่งอยู่ด้านในของโครงสร้างระดับตติยภูมิจะปรากฏขึ้นที่ด้านนอกและสามารถเกิดอันตรกิริยากับพอลิเพปไทด์สายอื่นด้วยพันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก เกิดเป็นโครงสร้างของฟิล์ม (Liu, 2012)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.3 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน

แม้ว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองจะมีสมบัติเด่นในด้านการต้านทานการซึมผ่านของออกซิเจนและไขมัน ในปัจจุบันการนำฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมาใช้งานยังไม่แพร่หลายนัก ทั้งนี้เนื่องจากข้อจำกัดสำคัญทางด้านความแข็งแรงเชิงกลเช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไป (Chambi and Grosso, 2006; Kim et al., 2002) ที่ผ่านมาจึงได้มีความพยายามที่จะปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนโดยการส่งเสริมให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามของโปรตีน ซึ่งทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ วิธีทางชีวเคมี และวิธีทางเคมี

2.3.1 วิธีทางกายภาพ

การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนด้วยวิธีทางกายภาพ อาจทำได้โดยการฉายรังสี และการใช้ความร้อน

2.3.1.1 การฉายรังสี

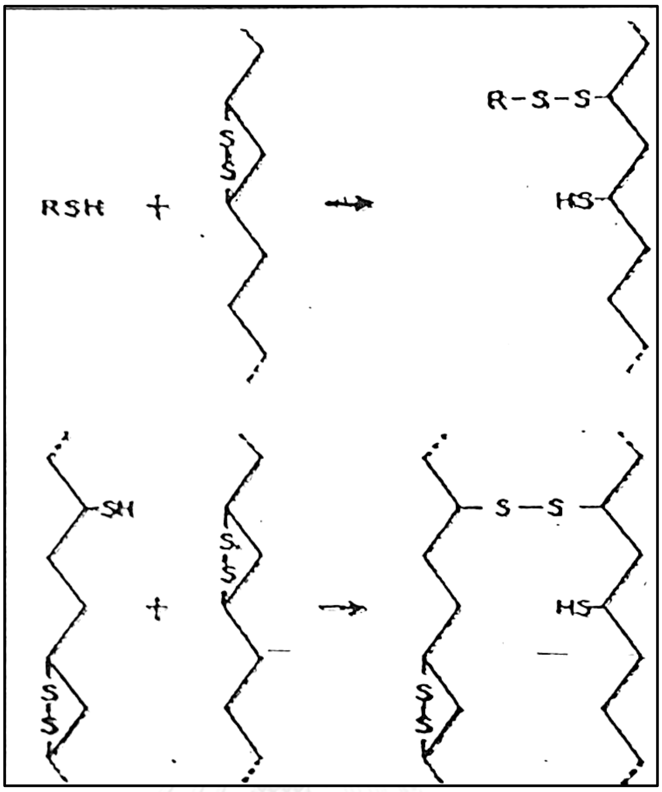
Galietta *et al.* (1998) รายงานว่ารังสีสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโน ส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามของหน่วยย่อยกรดอะมิโนในสายพอลิเพปไทด์ ซึ่งก่อนหน้านี้ Fujimori (1965) เสนอว่ากรดอะมิโนที่มีหมู่ข้าง (side group) เป็นอะโรมาติก ได้แก่ ไทโรซีน และเฟนิลอะลานีน สามารถดูดกลืนรังสี เช่นรังสีอัลตราไวโอเลต และรังสีแกมมา ส่งผลให้เกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามโปรตีนได้

Gennadios *et al.* (1998) ศึกษาผลของรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยแปรปริมาณรังสีดูดกลืน (absorbed dose) เป็น 6 ระดับ ได้แก่ 13.0, 25.9, 38.9, 51.8, 77.8 และ 103.7 จูล/ตารางเมตร พบว่าฟิล์มโปรตีนที่ฉายรังสีมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ฉายรังสี ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าการเปลี่ยนแปลงของสมบัติเชิงกลของฟิล์มเป็นผลจากการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เหนี่ยวนำโดยรังสี

Sabato *et al.* (2005) ศึกษาปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากปลานิล (Oreochromis niloticus) โดยใช้รังสีแกมมาซึ่งเป็นรังสีชนิดไอออไนซิ่ง (ionizing radiation) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีน ในงานวิจัยดังกล่าวได้แปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 25, 50, 100, 150 และ 200 kGy พบว่าฟิล์มที่ฉายรังสีมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่ผ่านการฉายรังสี โดยตัวอย่างที่ใช้รังสีดูดกลืน 100 kGy มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุด ทั้งนี้ผู้วิจัยรายงานว่าการฉายรังสีไม่ส่งผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม

2.3.1.2 การใช้ความร้อน

การใช้ความร้อนปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้ 2 รูปแบบ คือ การบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of film-forming solution) และการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of dry film) (Gennadios et al., 1996; Jangchud and Chinnan, 1999) Jensen (1959) เสนอว่าการให้ความร้อนแก่โปรตีนในภาวะที่เป็นเบสสามารถส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ (thiol-disulfide exchange) ซึ่งทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2. 1 ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์
ที่มา: Jensen (1959)

Gennadios *et al*. (1996) ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความร้อน โดยแปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 2 ระดับ ได้แก่ 80 และ 95 องศาเซลเซียส และแปรระยะเวลาการบ่มในช่วง 2-24 ชั่วโมง พบว่าการให้ความร้อนกับแผ่นฟิล์มโปรตีนมีผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าสูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการบ่มที่เท่ากัน อุณหภูมิการบ่มที่สูงกว่าส่งผลให้ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มลดลง ผู้วิจัยได้อธิบายว่าความร้อนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเป็นผลให้ฟิล์มโปรตีนมีความแข็งแรงเชิงกลมากขึ้น

Kim *et al*. (2002) ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความร้อน โดยแปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 60, 72.5 และ 85 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการบ่มเท่ากับ 24 ชั่วโมง พบว่าการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้นในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ในทำนองเดียวกัน Hernández-Muñoz *et al*. (2004b) ศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มกลูเตนินด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการบ่มเท่ากับ 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิการบ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น แต่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง

นลินทิพย์ คงแก้ว (2554) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนโดยใช้ตัวอย่างฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต (hydrogenated palm kernel oil) เข้มข้น 20% แปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 70, 80 และ 85 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการบ่มเป็น 30, 45 และ 60 นาที พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงที่สุด

2.3.2 วิธีทางชีวเคมี

วิธีทางชีวเคมีที่สามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน คือ วิธีทางเอนไซม์ โดยใช้เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามระหว่างสายเพปไทด์ เอนไซม์ที่มีการนำมาใช้ปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ เพอร์ออกซิเดส (EC 1.11.1.7) และแทรนส์กลูทามิเนส (EC 2.3.2.13)

เพอร์ออกซิเดส เป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของหน่วยย่อยไทโรซีนของสายเพปไทด์ เกิดการรวมตัวกัน (condensation) ของวงอะโรมาติก ได้เป็นไดเมอร์ ไตรเมอร์ หรือเตตระเมอร์ ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของไทโรซีนในลำดับของกรดอะมิโน (amino acid sequence) และความยาวของสายเพปไทด์ (Michon *et al.*, 1997) ส่วนแทรนส์กลูทามิเนสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มแทรนส์เฟอเรส สามารถเร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่เอซิลของแกมมาคาร์บอกซีเอไมด์ในหน่วยย่อยกลูทามีนซึ่งเป็นตัวให้หมู่เอซิล (acyl donor) ไปยังหมู่อะมิโนปฐมภูมิหรือเอพซิลอน-อะมิโนในหน่วยย่อยไลซีนซึ่งเป็นตัวรับหมู่เอซิล (acyl acceptor) เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยทั้งสองของสายเพปไทด์ (Ha and Luchi, 2003)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Stuchell and Krochta (1994) ศึกษาการใช้เพอร์ออกซิเดสจากฮอร์สแรดิชเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยใช้เพอร์ออกซิเดสในอัตราส่วน 1:1000 โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าการเติมเพอร์ออกซิเดสทำให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามผู้วิจัยให้ข้อสังเกตว่าเพอร์ออกซิเดสนอกจากจะช่วยให้เกิดการเชื่อมข้ามแล้วยังอาจทำให้เกิดดีเกรเดชันของโปรตีนด้วย

Tang and Jiang (2007) ศึกษาการใช้แทรนส์กลูทามิเนสเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มจากโปรตีนชนิดต่างๆ ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โซเดียมเคซีเนต เวย์โปรตีนเข้มข้น เจลาติน กลูเตน และโปรตีนถั่วลิสงสกัด โดยเติมแทรนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/กรัมโปรตีน พบว่าฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มจากโปรตีนชนิดเดียวกันที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมีค่าเพิ่มขึ้น 13-33% แตกต่างกันตามชนิดของโปรตีนที่ใช้ผลิตฟิล์ม และเมื่อศึกษารูปแบบของแถบ

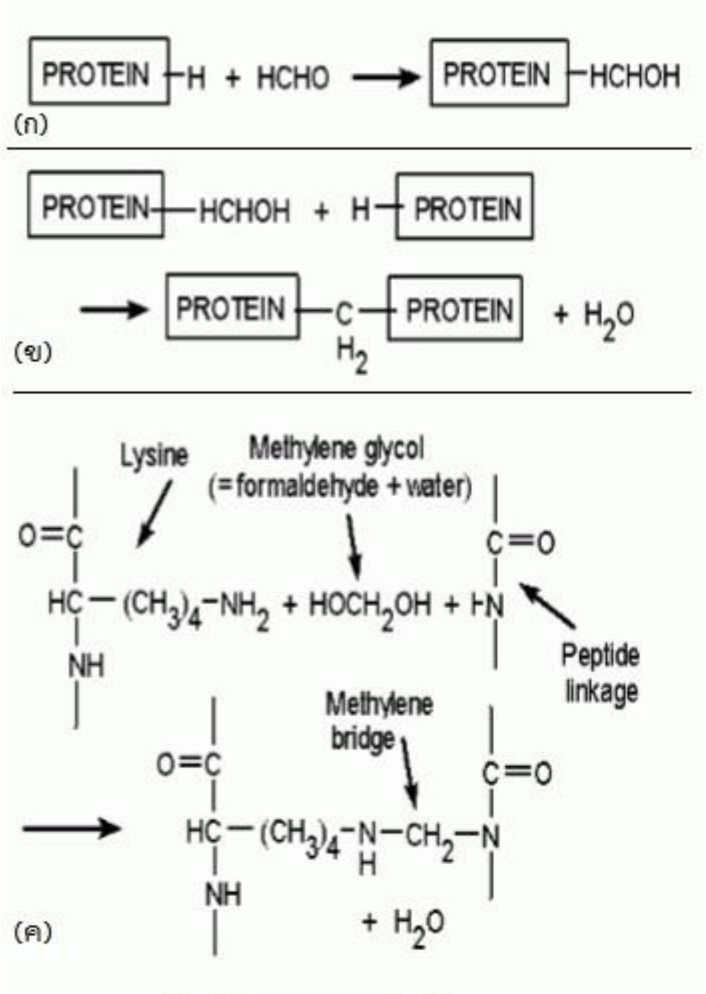
โปรตีนด้วยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (SDS-PAGE) พบว่าแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความเข้มลดลงในตัวอย่างฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูทามิเนส ซึ่งเป็นผลจากการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เร่งโดยแทรนส์กลูทามิเนส

Su *et al*. (2007) ศึกษาผลของแทรนส์กลูทามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีน 3 ชนิด ได้แก่ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดกับฟลาวร์ถั่วเหลือง และฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดกับเวย์โปรตีน โดยแปรความเข้มข้นของแทรนส์กลูทามิเนสเป็น 0-20 หน่วย/กรัมโปรตีน พบว่าการเติมเอนไซม์ส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนมีค่าสูงขึ้น

2.3.3 วิธีทางเคมี

สารเคมีหลายประเภทสามารถทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีน (protein cross-linker) ที่ผ่านมาตัวเชื่อมข้ามที่ได้รับความนิยม ได้แก่ สารในกลุ่มแอลดีไฮด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอลดีไฮด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ฟอร์มาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล แอลดีไฮด์สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่เป็นหน่วยย่อยของเพปไทด์และเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลและภายในโมเลกุลของโปรตีน รูปที่ 2.2 และ 2.3 แสดงกลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยฟอร์มาลดีไฮด์และกลูทาราลดีไฮด์ ตามลำดับ

Orliac *et al*. (2002) ศึกษาการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัดโดยใช้แอลดีไฮด์ แอลดีไฮด์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ฟอร์มาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล พบว่ากลูทาราลดีไฮด์มีประสิทธิภาพสูงสุดในการปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของตัวอย่างฟิล์ม โดยการเติมกลูทาราลดีไฮด์เพียง 1.5% สามารถเพิ่มความต้านทานแรงดึงขาดได้ถึง 85% จากตัวอย่างฟิล์มควบคุมซึ่งไม่เติมแอลดีไฮด์ การเติมฟอร์มาลดีไฮด์และไกลออกซัลสามารถเพิ่มความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามการเติมกลูทาราลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 3% กลับทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าแอลดีไฮด์สามารถเพิ่มการเชื่อมข้ามโปรตีนได้ แต่เมื่อความเข้มข้นแอลดีไฮด์สูงเกินไป แอลดีไฮด์จะเกิดพอลิเมอไรเซชันเกิดเป็นโซ่ตรง (linear chain) สายยาว ทำให้ระยะห่างระหว่างสายโปรตีนเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้จึงมีความแข็งแรงลดลง

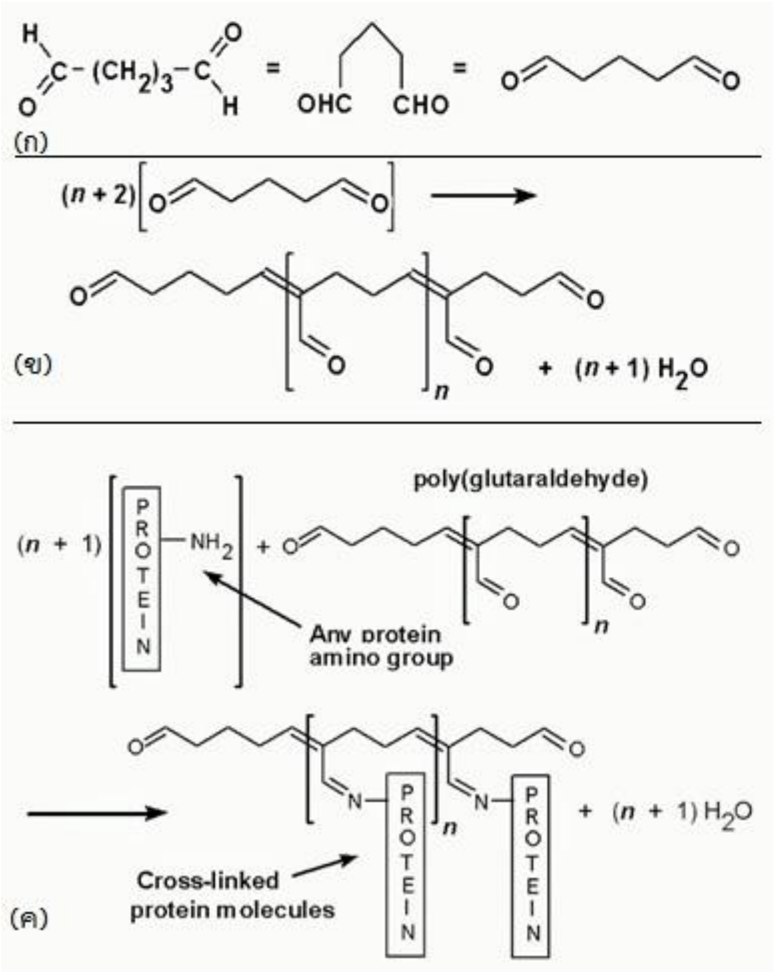


รูปที่ 2. 2 กลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยฟอร์มาลดีไฮด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

(ก) ฟอร์มาลดีไฮด์เกิดปฏิกิริยากับโปรตีน (ข) ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวทำปฏิกิริยากับโปรตีนอีกสายหนึ่งเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามเมทิลีนระหว่างสายโปรตีน และ (ค) การเชื่อมข้ามระหว่าง หมู่ข้างของไลซีนกับอะตอมไนโตรเจนของพันธะเพปไทด์โดยฟอร์มาลดีไฮด์

ที่มา: Kiernan (2000)



รูปที่ 2. 3 กลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยกลูทาราลดีไฮด์
(ก) มอนอเมอริกกลูทาราลดีไฮด์ (monomeric glutaraldehyde) (ข) กลูทาราลดีไฮด์เกิดพอลิเมอไรเซชันภายใต้ภาวะที่เป็นเบส และ (ค) พอลิเมอร์ของกลูทาราลดีไฮด์เกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของโปรตีนทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของสายโปรตีน
ที่มา: Kiernan (2000)

Hernández-Muñoz *et al*. (2004a) ศึกษาผลของตัวเชื่อมข้ามแอลดีไฮด์ที่มีต่อสมบัติของฟิล์มกลูเตนิน แอลดีไฮด์ที่ศึกษา ได้แก่ ฟอร์มาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล แปรความเข้มข้นของแอลดีไฮด์ เป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 4 และ 8% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าฟิล์มที่เติมฟอร์มาลดีไฮด์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ฟิล์มที่เติมกลูทาราลดีไฮด์และไกลออกซัล

De Carvalho and Grosso (2004) ศึกษาผลของการเติมฟอร์มาลดีไฮด์และไกลออกซัลต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน พบว่าการเติมฟอร์มาลดีไฮด์ส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึง-

ขาดสูงขึ้น ในขณะที่การเติมไกลออกซัลไม่มีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาติน นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งฟอร์มาลดีไฮด์และไกลออกซัลไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์ม

แม้ว่าแอลดีไฮด์จะเป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีนที่มีประสิทธิภาพสูง แต่มีความกังวลเกี่ยวกับความเป็นพิษของแอลดีไฮด์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการนำแอลดีไฮด์มาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มที่สัมผัสโดยมนุษย์หรือสัมผัสกับอาหาร O'Brien *et al.* (2005) รายงานว่าแอลดีไฮด์อาจมีผลต่อมนุษย์ในหลายด้าน ได้แก่ ความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง โรคตับ โรคเบาหวาน โรคที่เกิดจากความเสื่อมของระบบประสาท (neurodegenerative disease) โรคที่สัมพันธ์กับความชรา (aging-associated disease) ภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ภาวะภูมิแพ้ของระบบทางเดินหายใจ ความเป็นพิษต่อตัวอ่อน (embryotoxicity) และการก่อให้เกิดความผิดปกติของทารกในครรภ์ (teratogenicity) นักวิจัยจึงหันมาศึกษาเพื่อหาตัวเชื่อมข้ามชนิดอื่นที่มีความปลอดภัยสูงกว่า เช่น สารประกอบฟีนอลิก

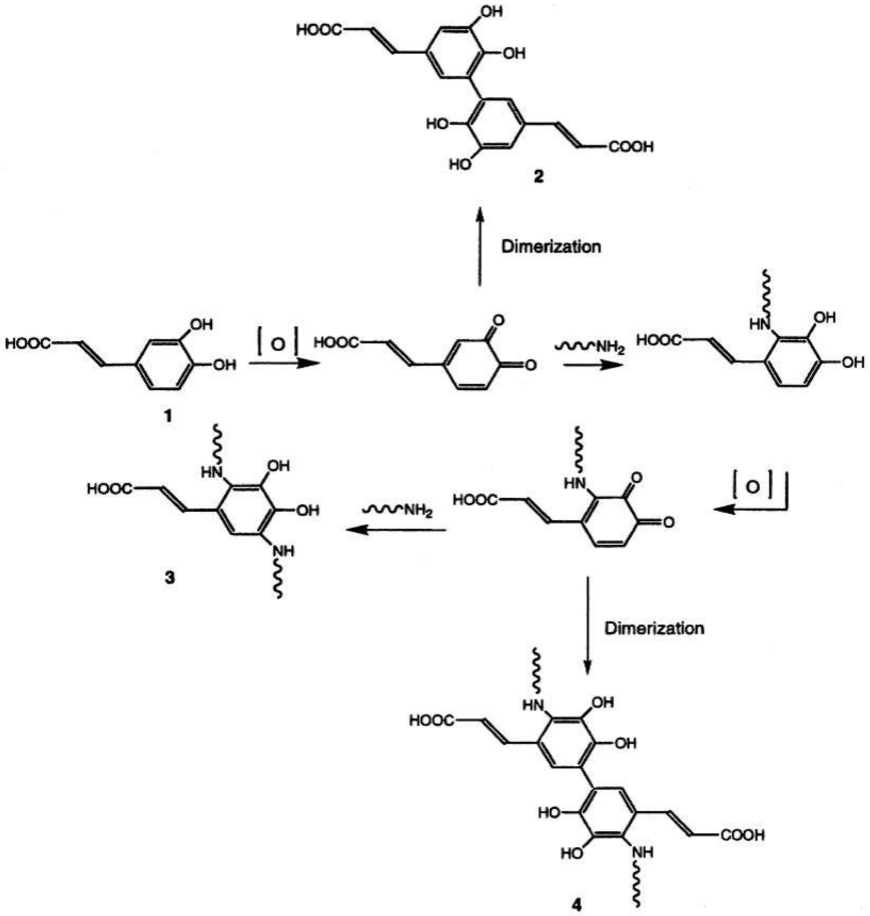
2.4 สารประกอบฟีนอลิก

โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนอย่างน้อย 1 วงและหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ นอกจากนี้ยังรวมถึงอนุพันธ์ของสารดังกล่าว โดยมีการแทนที่ด้วยหมู่เคมีต่างๆ ในตำแหน่งออร์โธ เมตา หรือพารา (O’Connell and Fox, 2001) สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่พบตามธรรมชาติมีความสามารถในการทำให้เกิดอันตรกิริยาเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีน โดยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะโควาเลนต์ (Hoque et al., 2011; Strauss and Gibson, 2004) สารประกอบฟีนอลิกนี้ยังสามารถถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารประกอบควิโนนและทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนและซัลฟ์ไฮดริลของกรดอะมิโนที่เป็นหน่วยย่อยของโปรตีนได้ ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจนและพันธะคาร์บอน-ซัลเฟอร์ (Strauss and Gibson, 2004) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกที่มีสถานะออกซิเดชันต่างกันยังมีความสามารถในการเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนที่ต่างกัน

Rawel *et al*. (2002) รายงานว่าความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกในการเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนขึ้นอยู่กับความสามารถของสารนั้นๆ ที่จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารประกอบควิโนน รูปที่ 2.4 แสดงกลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยสารประกอบฟีนอลิก

กรดฟีนอลิก (1) สามารถถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารประกอบควิโนน ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันนี้อาจเกิดได้ทั้งแบบอาศัยเอนไซม์หรือไม่อาศัยเอนไซม์ ควิโนนที่เกิดขึ้นสามารถเกิดปฏิกิริยาไดเมอไรเซชันได้เป็นไดเมอร์ (2) ซึ่งทำให้เกิดการรวมตัวของควิโนนโดยไม่เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีน หรือใน

อีกทางหนึ่งควิโนนอาจทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่โซ่ข้างของพอลิเพปไทด์ เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ชนิด คาร์บอน-ไนโตรเจน หรือ คาร์บอน-ซัลเฟอร์ กับวงฟีนอลิก พร้อมทั้งได้เป็นไฮโดรควิโนนกลับมา ไฮโดรควิโนนที่เกิดขึ้นสามารถถูกออกซิไดส์และเกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของพอลิเพปไทด์อีกสายหนึ่ง (3) ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของพอลิเพปไทด์สองสายเข้าด้วยกัน อีกกลไกหนึ่งที่อาจเกิดขึ้นคือควิโนนที่เกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลแล้วสามารถเกิดไดเมอไรเซชันทำให้เกิดการเชื่อมข้ามพอลิเพปไทด์สองสายได้เช่นเดียวกัน (4)



รูปที่ 2. 4 ปฏิกิริยาของกรดฟีนอลิกกับหมู่อะมิโนที่โซ่ข้างของสายพอลิเพปไทด์
ที่มา: Strauss and Gibson (2004)

จากความสามารถในการเชื่อมข้ามโปรตีนของสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าว จึงมีการประยุกต์สารประกอบฟีนอลิกและควิโนนเพื่อปรับปรุงสมบัติของระบบฟิล์มโปรตีนและระบบที่เกี่ยวข้อง เช่น เจลโปรตีน

Ou *et al.* (2005) ศึกษาผลของการเติมกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ และที่พีเอชแตกต่างกันต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยแปรความเข้มข้นของกรดเฟรูลิกเป็น 4 ระดับ ได้แก่

50, 100 150 และ 200 มิลลิกรัม/สารละลายฟิล์ม 100 กรัม และแปรพีเอชของสารละลายฟิล์มเป็น 8 และ 9 พบว่าความเข้มข้นของกรดเฟรูลิกที่ 100 มิลลิกรัม/สารละลายฟิล์ม 100 กรัม และพีเอชเท่ากับ 9 เป็นภาวะซึ่งทำให้ฟิล์มมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด โดยผู้วิจัยเสนอว่าความแข็งแรงที่เพิ่มขึ้นของฟิล์มโปรตีนเกิดจากการทำปฏิกิริยาของโครงสร้างโปรตีนกับกรดเฟรูลิก ซึ่งส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีน

Balange and Benjakul (2009) ศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลิกที่ออกซิไดส์ต่อสมบัติของเจลซูริมิปลาแมคเคอเรล โดยสารประกอบฟีนอลิกที่ศึกษา ได้แก่ กรดเฟรูลิก กรดแทนนิก คาเทชิน และกรดแคฟเฟอิก แปรความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในช่วง 0.05-0.25% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าเจลที่เติมสารประกอบฟีนอลิกที่ออกซิไดส์ ได้แก่ กรดเฟรูลิก 0.4% กรดแทนนิก 0.5% กรดแคฟเฟอิก 0.5% และคาเทชิน 0.1% ส่งผลให้ค่าแรงที่ทำให้เจลแตก (breaking force) มีค่าเพิ่มขึ้น 45, 115, 46.1 และ 70.3% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเจลที่ไม่เติมสารประกอบฟีนอลิก ผู้วิจัยเสนอว่าค่าแรงที่เพิ่มขึ้นดังกล่าวเป็นผลจากการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยกรดฟีนอลิกที่ออกซิไดส์

Nuthong *et al.* (2009) ศึกษาผลของการเติมกรดฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่ กรดแทนนิก กรดแคฟเฟอิก และกรดเฟรูลิก ต่อสมบัติของฟิล์มพลาสมาโปรตีนจากสุกร โดยแปรความเข้มข้นกรดฟีนอลิกเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 2 และ 3% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าเมื่อเติมกรดแทนนิก กรดแคฟเฟอิก และกรดเฟรูลิก เข้มข้น 3% โดยน้ำหนักของโปรตีน ฟิล์มที่ได้มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น 123.3, 194.3 และ 19.5% ตามลำดับ และค่าการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้น 71.1, 86.3 และ 10.2% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมกรดฟีนอลิก นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยการพ่นออกซิเจนลงในสารละลายฟิล์มที่เติมกรดแคฟเฟอิกเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักของโปรตีนเป็นเวลา 30 นาที พบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยพ่นออกซิเจนลงในสารละลายฟิล์มมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง โดยผู้วิจัยเสนอว่าการพ่นออกซิเจนส่งผลให้กรดแคฟเฟอิกบางส่วนถูกออกซิไดส์เป็นควิโนน ซึ่งเป็นสารเชื่อมข้ามที่มีประสิทธิภาพ

Prodpran *et al.* (2012) ศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลิก 4 ชนิด ได้แก่ กรดแคฟเฟอิก คาเทชิน กรดเฟรูลิก และกรดแทนนิก ต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จากปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง โดยกรดแทนนิกมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเชื่อมข้ามโปรตีน ซึ่งสังเกตได้จากรูปแบบของแถบโปรตีนที่ศึกษาด้วย SDS-PAGE โดยพบการลดลงของความเข้มของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับไมโอซินสายหนัก แสดงถึงการเกิดการเชื่อมข้ามของไมโอซินสายหนักไปเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเชื่อมข้ามของโปรตีนเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น

นอกจากการเติมสารประกอบฟีนอลิกในรูปของสารเคมีแล้ว ยังมีการใช้สารประกอบฟีนอลิกในรูปของสารสกัดจากพืช ตัวอย่างเช่น Wu et al. (2013) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โดยเติมสารสกัดจากชาเขียวเข้มข้น 0.3 และ 0.7% พบว่าฟิล์มเจลาตินมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากชาเขียวเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดจากชาเขียวเข้มข้น 0.7% มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมสารสกัดจากชาเขียวถึง 45% ผู้วิจัยเสนอว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากชาเขียวสามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่อะมิโนและหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของโปรตีนได้ ทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามและช่วยเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลให้แก่ฟิล์มเจลาติน

Siripatrawan and Harte (2010) ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มไคโทซานโดยแปรความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวที่เติมลงในสารละลายฟิล์มเป็น 2, 5, 10 และ 20% พบว่าการเติมสารสกัดชาเขียวโดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงๆ (มากกว่า 5%) ส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดชาเขียวมีผลให้หมู่เคมีที่สามารถจับกับน้ำได้มีจำนวนลดลง ทำให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดลง

Salgado *et al.* (2010) ศึกษาสมบัติของฟิล์มโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัด (sunflower seed protein isolate) ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการโดยวิธีที่แตกต่างกัน คือ (1) เตรียมโดยการตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริกและทำให้ละลายที่พีเอชเท่ากับ 9 (SunI) (2) เตรียมโดยการนำ SunI มาล้างด้วยน้ำ ($SunI_{W}$) และ (3) เตรียมโดยการนำ SunI มาล้างด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ($SunI_{R}$) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัดที่เตรียมได้พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในช่วง 1.82-2.51% โดยน้ำหนัก และเมื่อนำโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัดมาผลิตเป็นฟิล์ม พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่ได้ไม่แตกต่างกันในด้านสมบัติเชิงกลและสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ อย่างไรก็ตามพบว่าโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าทำให้ฟิล์มที่ผลิตได้มีความขุ่นสูงกว่า

นอกจากนี้ Hoque *et al.* (2011) ได้ศึกษาสมบัติของฟิล์มเจลาตินจากหมึกสาย (cuttlefish) ที่เสริมสารสกัดจากอบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก โดยแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดเป็นสารสกัดที่ออกซิไดส์และสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ พบว่าฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดและสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.5 ขิงและข่า

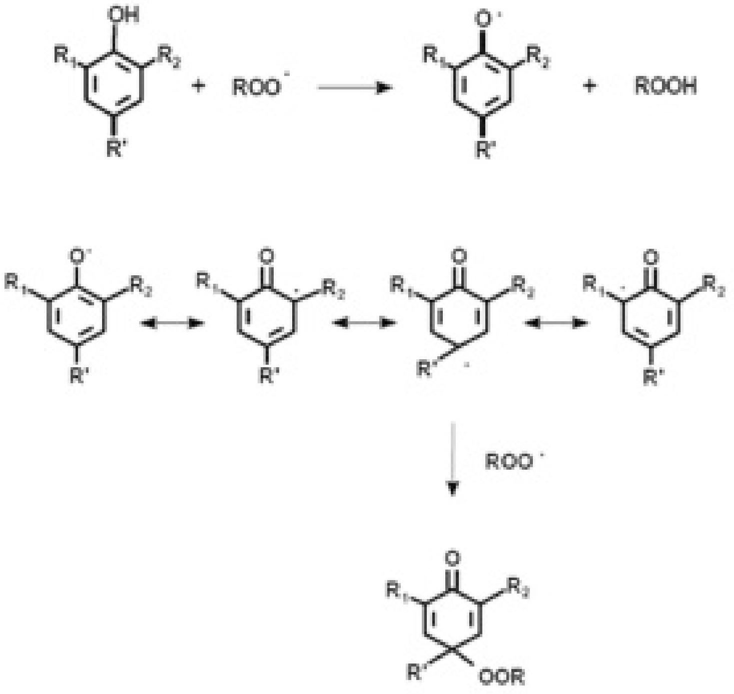
ขิงและข่าเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ โดยสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในขิง ได้แก่ จิงเจอรอล เควอเซทิน รูทิน คาเทชิน เอพิคาเทชิน และนารินเจนิน (Cai *et al*., 2004; Ghasemzadeh *et al*., 2010) ส่วนข่าพบว่าประกอบด้วย กรดแกลลิก กรดเฟรูลิก แทนนิน และกาแลนกิน (Cai *et al*., 2004; Nampoothiri *et al*., 2015) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่รายงานถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชในวงศ์นี้ (Chan *et al*., 2011; Habsah *et al*., 2000; Sabli *et al*., 2012)

Cai *et al*. (2004) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในพืชของจีนซึ่งมีสมบัติเชิงเภสัชจำนวน 112 ชนิด พบว่าสารสกัดน้ำ (aqueous extract) ของขิง (*Zingiber officinale*) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity เทียบเท่ากับ 82.4 ไมโครโมลโทรลอกซ์/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม และมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์โดยวิธี Folin-Ciocalteu เทียบเท่ากับ 0.38 กรัมของกรดแกลลิก/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม

Nampoothiri *et al*. (2015) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชในวงศ์ Zingiberaceae ได้แก่ ข่า (*Alpinia galangal*) และกระวาน (*Alpinia calcarata*) ซึ่งเป็นพืชที่ให้กลิ่นรสและมีสมบัติเชิงเภสัชที่สำคัญของอินเดีย พบว่าข่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity และ ABTS radical scavenging activity รวมทั้งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่ากระวาน

2.6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพ

นอกจากความสามารถในการเป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีนแล้ว สารประกอบฟีนอลิกยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เนื่องจากโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนซึ่งเป็นระบบของพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว (conjugated double bond) ทำให้เกิดการเปลี่ยนตำแหน่งของอิเล็กตรอน (electron delocalization) และเกิดเรโซแนนซ์ของโครงสร้างได้ มีผลให้อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมีความเสถียรและไม่เข้าร่วมในปฏิกิริยาลูกโซ่ในระยะเพิ่มจำนวน (propagation step) ของปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (Nawar, 1996) เมื่อฟีนอลิกให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วจะอยู่ในรูปที่เสถียรและไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2. 5 กลไกการกำจัดอนุมูลอิสระเพอร์ออกซีของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: Nawar (1996)

ปัจจุบันวัสดุบรรจุภัณฑ์แอกทีฟหรือวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ทำหน้าที่อื่นนอกเหนือการปกป้องผลิตภัณฑ์ภายในได้รับความนิยมมากขึ้น ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการเสื่อมคุณภาพของอาหารต่างๆ ที่ผ่านมาได้มีการนำสารสกัดจากพืชต่างๆ มาใช้ในฟิล์ม เช่น สารสกัดจากชาเขียว (de Dicastillo *et al.*, 2013; Siripatrawan and Harte, 2010; Wu *et al.*, 2013) ใบพลู (Nouri and Nafchi, 2014) โสม (Norajit *et al.*, 2010) อบเชย (Hoque *et al.*, 2011) กานพลู (Hoque *et al.*, 2011) และโป๊ยกั๊ก (Hoque *et al.*, 2011) โดยงานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นการศึกษาเฉพาะด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มที่เติมสารสกัดจากพืชเหล่านี้

Wu *et al*. (2013) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โดยเติมสารสกัดจากชาเขียวเข้มข้น 0.3 และ 0.7% ผู้วิจัยรายงานว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดจากชาเขียวที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากชาเขียวเพิ่มสูงขึ้น

Siripatrawan and Harte (2010) ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มไคโทซาน โดยแปรความเข้มข้นสารสกัดชาเขียวที่เติมลงในสารละลายฟิล์มเป็น 2, 5, 10 และ 20% พบว่า สารสกัดชาเขียวส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มไคโทซานซึ่งวิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging assay มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

Salgado *et al*. (2010) ศึกษาสมบัติของฟิล์มโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัดที่เตรียมในห้องปฏิบัติการโดยวิธีที่แตกต่างกัน คือ (1) เตรียมโดยการตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริกและทำให้ละลายที่พีเอชเท่ากับ 9 (SunI) (2) เตรียมโดยการนำ SunI มาล้างด้วยน้ำ ($SunI_W$) และ (3) เตรียมโดยการนำ SunI มาล้างด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ($SunI_R$) เมื่อนำมาผลิตเป็นฟิล์มพบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity

Moradi *et al*. (2012) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจาก *Zataria multiflora* Boiss (ZEO) ซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกันกับโหระพา มิ้นต์ และโรสแมรี่ และศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น(GSE) ต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มไคโทซานที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging assay โดยเติม ZEO เข้มข้น 5 และ 10 กรัม/ลิตร และเติม GSE เข้มข้น 10 กรัม/ลิตร พบว่าฟิล์มไคโทซานที่เติม ZEO และ/หรือ GSE มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน FRAP สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (โปรตีน 93%) (บริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด, กรุงเทพฯ)

ขิงสด พันธุ์ขิงใหญ่ (ตลาดสามย่านใหม่, กรุงเทพฯ)

ข่าสด พันธุ์ข่าใหญ่ (ตลาดสามย่านใหม่, กรุงเทพฯ)

Acetic acid, glacial, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Ammonium persulfate, AR grade (USB, Cleveland, OH)

Bovine serum albumin, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)

Bromophenol blue, AR grade (USB, Cleveland, OH)

Coomassie brilliant blue R-250, AR grade (Fluka, Buchs, Sweitzerland)

Copper (II) sulfate, AR grade (Univar, Seven Hills, Australia)

Ethanol, 95%, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Ronado, Italy)

Folin-Ciocalteu's phenol reagent, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Ronado, Italy)

Gallic acid, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)

Glycerol (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Hydrochloric acid, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Hydrogen peroxide, 30%, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)

Mercaptoethanol, AR grade (Merck, Darmstadt, Germany)

N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED), AR grade (USB, Cleveland, OH)

Sodium carbonate, anhydrous, AR grade (Univar, Seven Hills, Australia)

Sodium dodecyl sulfate (SDS), AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Sodium hydroxide, anhydrous, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Sodium potassium tartrate, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Tris-(hydroxymethyl-methylamine), AR grade (Fisher Scientific, Leicestershire, UK)

3.2 อุปกรณ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Centrifuge, model Z36HK (Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany)

Color meter system, Chroma Meter, model CR-400 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan)

Contact angle measuring instrument, model OCA15EC (Data Physics Instrument, Filderstadt, Germany)

Digital thickness gauge, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)

Freeze dryer, model 7753501 (Labconco, Kansas City, MO, USA)

Homogenizer, model X10/25 (Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany)

Laboratory hot air oven, model PRO/150 (Genlab Prime, Cheshire, UK)

Platform shaker, Innova®, model 2050 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Scanning electron microscope, model JSM-6610LV (JEOL, Tokyo, Japan)

Universal materials testing machine, model 5565 (Instron, Norwood, MA, USA)

Ultrasonic bath, model 136H (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)

Visible spectrophotometer, model GENESYS20 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

Waring® blender, model 8010BU (Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA)

Water bath, model SW23 (Julabolabortechnik, Seelbach, Germany)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การเตรียมสารสกัดจากขิงและข่า

วัตถุดิบเหง้าขิงใหญ่และเหง้าข่าใหญ่สดซื้อจากตลาดสามย่านใหม่ กรุงเทพฯ นำมาเตรียมสารสกัดโดยดัดแปลงจากวิธีของ (Sangnate *et al.*, 2013) นำเหง้าขิงและข่ามาล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปา แล้วหั่นเป็นแว่นหนาประมาณ 1 เซนติเมตร นำมาให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อยับยั้งกิจกรรมของพอลิฟีนอลออกซิเดสที่มีตามธรรมชาติในเหง้าขิงและข่า บดผสมขิงหรือข่ากับน้ำกลั่นโดยใช้อัตราส่วนของขิงหรือข่าต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1:1 ด้วย Waring® blender (model 8010BU, Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 นาที นำสเลอรีที่ได้มากรอง

นำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้มาทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (model 7753501, Labconco, Kansas City, MO, USA) นำผงสารสกัดที่ได้บรรจุลงในถุงอลูมินัมฟอล์ยลามิเนตพร้อมกับซองบรรจุสารดูดความชื้นชนิดซิลิกาเจล ปิดผนึกด้วยความร้อน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.3.2 การศึกษาผลของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

งานวิจัยในขั้นตอนนี้ศึกษาผลของสถานะออกซิเดชันและความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงหรือข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดจากขิงและข่าเป็น 2 สถานะ ได้แก่ ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ และแปรความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงและข่าเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มแสดงดังตารางที่ 3.1 กำหนดให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมสารสกัดเป็นตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3. 1 ปริมาณวัตถุดิบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์ม 100 กรัม

วัตถุดิบ	ความเข้มข้นของสารสกัดขิงหรือข่าในตัวอย่างฟิล์ม (% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง)			
	0 (ตัวอย่างควบคุม)	2	5	10
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	5.0	5.0	5.0	5.0
สารละลายบัฟเฟอร์*	92.25	82.25	82.25	82.25
กลีเซอรอล	2.75	2.75	2.75	2.75
สารสกัดจากขิงหรือข่า	0	0.10	0.25	0.50
สารละลายบัฟเฟอร์**	0	9.90	9.75	9.50

*สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl (พีเอช 8.0) ส่วนที่ใช้ละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

**สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl (พีเอช 8.0) ส่วนที่ใช้ละลายสารสกัดจากขิงหรือข่า

เตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang *et al.* (2007) สำหรับตัวอย่างควบคุม (รูปที่ 3.1) เตรียมโดยเตรียมสารละลายของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0) ที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเพื่อทำหน้าที่เป็นพลาสติไซเซอร์ ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (model X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็ว 19,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายฟิล์มไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (model SW23, Julabolabortechnik, Seelbach, Germany)

ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำให้โปรตีนถั่วเหลืองเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วจึงนำสารละลายฟิล์มมากำจัดฟองอากาศโดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (model 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) เป็นเวลา 10 นาที ขึ้นรูปฟิล์มโดยปิเปตต์สารละลายฟิล์มปริมาตร 40.0 มิลลิลิตร บรรจุลงในพิมพ์สแตนเลสสตีลที่บุด้วยแผ่นพอลิเททราฟลูออโรเอทิลีน (ptfe sheet) ขนาด 9.5 เซนติเมตร × 18.0 เซนติเมตร ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแผ่นฟิล์มที่ได้จะมีความชื้นประมาณ 10% โดยน้ำหนักสด จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออก แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้นที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า เตรียมสารละลายของสารสกัดแยกต่างหากจากสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ในกรณีสารละลายของสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์เตรียมโดยชั่งสารสกัดจากขิงหรือข่า (ตารางที่ 3.1) นำมาละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0) ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนสารละลายของสารสกัดที่ออกซิไดส์ เตรียมโดยชั่งสารสกัดจากขิงหรือข่า (ตารางที่ 3.1) นำมาละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0) ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เข้มข้น 100 มิลลิกรัม/สารละลาย 100 กรัม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากขิงหรือข่าได้ถูกออกซิไดส์อย่างสมบูรณ์แล้ว (อัญชนา อินสวาสดิ์, 2557) จากนั้นปรับพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ 9.0 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์ เพื่อกำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ส่วนเกิน (Ou *et al.*, 2005)

สำหรับการเตรียมตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า (รูปที่ 3.2) ทำโดยเตรียมสารละลายของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0) ที่อุณหภูมิห้อง เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (model X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็ว 19,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (model SW23, Julabolabortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงผสมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและสารละลายของสารสกัดจากขิงหรือข่าที่เตรียมไว้ข้างต้นเข้าด้วยกัน ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (model X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็ว 19,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำ

สารละลายฟิล์มที่ได้มากำจัดฟองอากาศโดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (model 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) เป็นเวลา 10 นาที ขึ้นรูปฟิล์มโดยปิเปตต์สารละลายฟิล์มปริมาตร 40.0 มิลลิลิตร บรรจุลงในพิมพ์สแตนเลสสตีลที่บุด้วยแผ่นพอลิเททราฟลูออโรเอทิลีน ขนาด 9.5 เซนติเมตร × 18.0 เซนติเมตร ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแผ่นฟิล์มที่ได้จะมีความชื้นประมาณ 10% โดยน้ำหนักสด จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออก แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้นที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

3.3.2.1 ความหนา

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 10 เซนติเมตร วัดความหนาด้วยเครื่อง digital thickness gauge (model 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) สุ่มวัดความหนาของตัวอย่างชิ้นละ 15 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ

3.3.2.2 สมบัติเชิงกล

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร x 8 เซนติเมตร วัดความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้เครื่อง universal materials testing machine (model 5565, Instron, Norwood, MA) โดยใช้ load cell ขนาด 5 กิโลกรัม และหัววัด pneumatic side-action grips ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 20 มิลลิเมตร แล้วดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 มิลลิเมตร/วินาที จนกระทั่งแผ่นฟิล์มขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงชิ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นกรัม-แรง) และระยะทางที่สามารถดึงชิ้นตัวอย่างให้ยืดออกได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) คำนวณการต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดโดยใช้สมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

ละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0)

↓

เติมกลีเซอรอล

↓

ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

↓

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

↓

ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง

↓

กำจัดฟองอากาศ

↓

ปิเปตต์สารละลายฟิล์มบรรจุลงในพิมพ์

↓

ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

แผ่นฟิล์ม

↓

เก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

↓

วิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างฟิล์มควบคุม

ละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0)

↓

เติมกลีเซอรอล

↓

ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

↓

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

↓

ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง

↓

เติมสารละลายของสารสกัดจากขิงหรือข่าในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl
เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0) (สถานะไม่ออกซิไดส์หรือออกซิไดส์)

↓

ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

↓

กำจัดฟองอากาศ

↓

ปิเปตต์สารละลายฟิล์มบรรจุลงในพิมพ์

↓

ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

CHULALONGKORN UNIVERSITY

แผ่นฟิล์ม

↓

เก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

↓

วิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์ม

รูปที่ 3. 2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า

ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล) = $(F \times 0.009807 \times 10^{-6})/w\ d$ (3.1)

เมื่อ F คือ แรงที่ใช้ในการดึงชิ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (กรัม-แรง)

w คือ ความกว้างของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

d คือ ความหนาของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

การยืดตัวถึงจุดขาด (%) = $L_f \times 100/L_i$ (3.2)

เมื่อ L_f คือ ระยะทางที่สามารถดึงชิ้นตัวอย่างให้ยืดออกได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (มิลลิเมตร)

L_i คือ ความยาวของชิ้นตัวอย่างระหว่างส่วนยึดจับก่อนดึง (มิลลิเมตร)

3.3.2.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM (1999) โดยนำซิลิกาเจลมาอบให้แห้ง แล้วบรรจุลงในถ้วยตัวอย่าง (permeation cup) นำตัวอย่างฟิล์มขนาด 6 เซนติเมตร × 6 เซนติเมตร วางลงบนปากถ้วยและรัดด้วยยางวง จากนั้นพันพาราฟิล์มทับรอบตำแหน่งของยางวงอีกชั้นหนึ่ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่ได้เป็นน้ำหนักเริ่มต้น จากนั้นนำถ้วยที่ติดตั้งฟิล์มตัวอย่างไปบรรจุในเดซิเคเตอร์ที่อิ่มตัวด้วยน้ำกลั่น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของถ้วยตัวอย่างจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คำนวณสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำโดยใช้สมการที่ 3.3

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ($g\ m/Pa\ h\ m^2$) = $W\ L/A\ t\ (\Delta P)$ (3.3)

เมื่อ W คือ น้ำหนักของถ้วยตัวอย่าง (กรัม)

L คือ ความหนาของแผ่นฟิล์ม (เมตร)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์มที่ไอน้ำผ่านได้ (ตารางเมตร)

t คือ เวลาที่น้ำหนักของถ้วยตัวอย่างคงที่ (ชั่วโมง)

ΔP คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำระหว่างสองด้านของแผ่นฟิล์ม (พาสคาล)

3.3.2.4 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีของ Jangchud and Chinnan (1999) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร × 2 เซนติเมตร บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่างฟิล์ม บรรจุตัวอย่างฟิล์มที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่า Innova® (model 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 4 ที่อบแห้งและบันทึกน้ำหนักไว้แล้ว ชะด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำกระดาษกรองพร้อมตัวอย่างที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (model PRO/150, Genlab Prime, Cheshire, UK) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณความสามารถในการละลายน้ำ โดยใช้สมการที่ 3.4

ความสามารถในการละลายน้ำ = $(W_i - W_f) \times 100/W_i$ (3.4)

เมื่อ W_i คือ น้ำหนักตัวอย่างฟิล์มเริ่มต้น (กรัม)

W_f คือ น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มหลังอบแห้ง (กรัม)

3.3.2.5 มุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

วัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang *et al.* (2005) โดยใช้ contact angle measuring instrument (model OCA15CE, Data Physics Instruments, Filderstadt, Germany) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร × 7 เซนติเมตร นำตัวอย่างฟิล์มไปวางบนแท่นวางตัวอย่าง หยดน้ำกลั่น 4 ไมโครลิตร ลงบนผิวของตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว medium วัดมุมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม วัดตัวอย่างละ 3 ชิ้น นับเป็น 1 ซ้ำ

3.3.2.6 ความโปร่งแสง (transparency)

วัดความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) โดยดัดแปลงจากวิธีของ (Tang *et al.*, 2005) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 1 เซนติเมตร × 4 เซนติเมตร ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนพื้นผิวด้านในของด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวตต์แก้ว วัดร้อยละของแสงส่องผ่านด้วย visible spectrophotometer (model GENESYS20, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ร้อยละของแสงที่ส่องผ่านคิวเวตต์เปล่า (แบลงก์) มีค่าเท่ากับ 100

3.3.2.7 ค่าสี

วัดค่า $L*$, $a*$ และ $b*$ ในระบบ CIELAB ด้วย Chroma Meter (model CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมมอง 10 องศา จากนั้นนำค่า $L*$, $a*$ และ $b*$ ที่ได้มาคำนวณมุมสี (hue angle) และความเข้มสี (chroma) โดยใช้สมการที่ 3.5 และ 3.6 สุ่มวัดสีตัวอย่างละ 5 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ

มุมสี (องศา) = arctan ($b*/a*$) (3.5)

ความเข้มสี = $(a*^2+b*^2)^{1/2}$ (3.6)

3.3.2.8 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 5 เซนติเมตร × 5 เซนติเมตร เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทที่บรรจุซิลิกาเจลเป็นเวลา 7 วัน

ในการศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง เตรียมตัวอย่างโดยตัดแต่งชิ้นฟิล์มให้มีขนาดเล็กกว่าแท่นติดตั้งตัวอย่าง แล้วจุ่มลงในไนโตรเจนเหลวเพื่อแช่แข็ง หักตัวอย่างฟิล์ม แล้วทิ้งไว้ให้ตัวอย่างฟิล์มอ่อนตัวลง จากนั้นติดตัวอย่างลงบนแท่นติดตั้งตัวอย่างทองเหลืองแล้วฉาบด้วยทอง ศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (model JSM-6610LV, JEOL, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 1500 เท่า

3.3.2.9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

สกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างฟิล์มโดยนำตัวอย่างฟิล์ม 0.25 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย Waring® blender (model 8010BU, Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA) จากนั้นนำสเลอรีที่ได้ไปเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่า Innova® (model 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมากรอง แล้วนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Waterhouse (2005) (ภาคผนวก ข.1)

3.3.2.10 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สกัดตัวอย่างฟิล์มตามวิธีในข้อ 3.3.2.9 นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996) (ภาคผนวก ข.2) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams *et al.* (1995) (ภาคผนวก ข.3)

3.3.2.11 รูปแบบของแถบโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยตัดตัวอย่างฟิล์มเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วชั่งมา 0.3 กรัม บรรจุลงใน Eppendorf tube เติม sample buffer ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร โดย sample buffer ประกอบด้วย Tris-HCl buffer เข้มข้น 0.5 โมลาร์ (พีเอช 6.8) sodium dodecyl sulfate (SDS) เข้มข้น 10% glycerol เข้มข้น 20% และ mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% ผสม sample buffer กับตัวอย่างฟิล์มจนเข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากทิ้งให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง นำสารแขวนลอยที่ได้ไปเหวี่ยงแยกโดยใช้เครื่องเหวี่ยงแยก (model Z36HK, Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany) ที่ 31,150×g อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสเพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

นำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี modified Lowry Peterson (1982) โดยเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ (1) copper-tartrate-carbonate (CTC) stock solution (เตรียมโดยละลาย copper sulfate ปริมาณ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และ sodium potassium tartrate ปริมาณ 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นำสารละลายทั้งสองเติมลงในสารละลายของ sodium carbonate ปริมาณ 10 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น) (2) Reagent A (เตรียมโดยผสม CTC stock solution เข้ากับสารละลาย SDS เข้มข้น 5% (w/v) และ sodium hydroxide stock solution เข้มข้น 0.8 โมลาร์ ในอัตราส่วน 1:2:1 โดยปริมาตร) และ (3) Reagent B (เตรียมโดยผสม Folin-Ciocalteu reagent เข้มข้น 2 นอร์มัล กับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร)

เตรียมตัวอย่างโปรตีนเพื่อเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของปริมาณโปรตีนโดยใช้ bovine serum albumin (BSA) โดยเตรียมเป็นสารละลายโปรตีนในน้ำกลั่นเข้มข้น 5-

100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เติมสารละลาย sodium deoxycholate (DOC) เข้มข้น 0.15% (w/v) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) เข้มข้น 72% (w/v) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำสารละลายโปรตีนที่ได้ไปเหวี่ยงแยกที่ 31,150×g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กำจัดส่วนใส นำส่วนตะกอนโปรตีนมาเติม Reagent A ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อละลายตะกอน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม Reagent B ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างฟิล์มทำโดยวิธีเดียวกับการเตรียมกราฟเทียบมาตรฐาน แต่ใช้สารละลายตัวอย่างแทนการใช้สารละลาย BSA หาปริมาณโปรตีนของตัวอย่างฟิล์มโดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟเทียบมาตรฐาน

การตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน

เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน เว้นแต่สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในขั้นตอนนี้มีส่วนประกอบของ bromophenol blue เข้มข้น 1%

ศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนด้วย sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) โดยเริ่มจากการเตรียมเจล ในขั้นตอนแรกล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำกลั่นแล้วเช็ดด้วยเอทานอล ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นประกบแผ่นกระจกทั้งสองแผ่นโดยใช้ spacer คั่นที่ขอบทั้ง 2 ด้าน ประกอบแผ่นกระจกเข้ากับเครื่องโดยหันกระจกด้านที่มีรอยเว้าเข้าหาตัวเครื่อง ปิเปตต์สารละลาย separating gel (ตารางที่ 3.2) ลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก จนกระทั่งสารละลายอยู่ห่างจากขอบกระจกด้านเว้าประมาณ 1.5 เซนติเมตร แล้วหยดสารละลายบิวทานอลปิดทับผิวหน้าเจล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเจลแข็งตัว (ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง) เทสารละลายบิวทานอลบนผิวหน้าเจลทิ้ง ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วปิเปตต์สารละลาย stacking gel (ตารางที่ 3.2) เติมลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกจนระดับของสารละลายถึงขอบของกระจก จากนั้นสอด comb ลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเจลแข็งตัว (ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง) ถอด comb ออก จะได้เจลสำหรับวิเคราะห์ SDS-PAGE

ตารางที่ 3. 2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE*

สารเคมี	Separating gel	Stacking gel
Acrylamide stock solution เข้มข้น 30%	6.7 มิลลิลิตร	0.99 มิลลิลิตร
Separating gel buffer เข้มข้น 1.5 โมลาร์ (พีเอช 8.8)	5 มิลลิลิตร	-
Stacking gel buffer เข้มข้น 0.5 โมลาร์ (พีเอช 6.8)	-	1.87 มิลลิลิตร
Sodium dodecyl sulfate เข้มข้น 10%	200 ไมโครลิตร	74.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	8 มิลลิลิตร	4.57 มิลลิลิตร
TEMED	6.7 ไมโครลิตร	3.71 ไมโครลิตร
Ammonium persulfate เข้มข้น 10%	100 ไมโครลิตร	37.58 ไมโครลิตร

*สำหรับเตรียมเป็นแผ่นเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น

สำหรับขั้นตอนการทำอิเล็กโทรโฟเรซิส ต่อชุดอิเล็กโทรโฟเรซิสเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า เตรียม electrophoresis buffer โดยนำ Tris ปริมาณ 3.02 กรัม glycine ปริมาณ 14.4 กรัม และ SDS ปริมาณ 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติม electrophoresis buffer ลงใน chamber จนสารละลายเข้าไประหว่างแผ่นกระจกจนท่วมแผ่นเจล ปิเปตต์สารละลายโปรตีนที่จะวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนให้มีปริมาณโปรตีน 3.5 ไมโครกรัม บรรจุลงในช่องของ stacking gel ช่องละ 1 ตัวอย่าง โดยปิเปตต์โปรตีนมาตรฐาน (protein marker) ลงในช่องหนึ่งเพื่อการเปรียบเทียบ

ตั้งค่าแรงดันไฟฟ้าที่ 120 โวลต์และกระแสไฟฟ้าที่ 40 มิลลิแอมแปร์ สำหรับแผ่นเจล 2 แผ่น จากนั้นเปิดกระแสไฟฟ้าจนกระทั่งแถบสีเคลื่อนที่ลงมาจนห่างจากขอบล่างของกระจกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (ใช้เวลาประมาณ 1.5-2 ชั่วโมง) จึงปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า แล้วแกะแผ่นเจลออกจากแผ่นกระจก

เตรียม staining solution โดยผสม Coomassie brilliant blue R-250 ปริมาณ 1 กรัม กับ ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร และเตรียม destaining solution โดยผสม ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 650 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน

นำแผ่นเจลที่ได้ไปแช่ใน staining solution เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเท staining solution ทิ้ง แล้วล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วจึงนำไปแช่ใน destaining solution จนเห็นแถบโปรตีนปรากฏขึ้น จึงเท destaining solution ทิ้ง นำเจลมาล้างด้วยน้ำกลั่น และแช่ทิ้งไว้ในน้ำกลั่น บันทึกภาพรูปแบบของแถบโปรตีน

3.3.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า

สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า คัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าจากข้อ 3.3.2 ชนิดละ 1 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกตัวอย่างที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด แปรอุณหภูมิการทำแห้งฟิล์มโดยใช้ตู้อบลมร้อนเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้นของตัวอย่างฟิล์มเพื่อสร้างกราฟการทำแห้ง (ภาคผนวก ค) จากนั้นผลิตตัวอย่างฟิล์มโดยใช้ระยะเวลาการทำแห้งที่ให้ปริมาณความชื้นเท่ากับ 10% โดยน้ำหนักสด นำตัวอย่างฟิล์มมาวิเคราะห์สมบัติตามข้อ 3.3.2.1-3.3.2.10 เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง และวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนด้วย reducing SDS-PAGE (ตามข้อ 3.3.2.11) และ non-reducing SDS-PAGE (วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2.11 ยกเว้นในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโปรตีนไม่มีการเติม mercaptoethanol)

3.3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (Cochran and Cox, 1957)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

งานวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของสถานะออกซิเดชันและความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดจากขิงและข่าเป็น 2 สถานะ ได้แก่ ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ ซึ่งจะได้เป็นตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) และขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) และตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) แปรความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงและข่าเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่ไม่เติมสารสกัด ได้ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มดังนี้

4.1.1 ความหนา

ความหนาของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.139-1.176 มิลลิเมตร Cuq *et al.* (1996) และ Galus *et al.* (2012) เสนอว่าปัจจัยที่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็ง และภาวะที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในงานวิจัยนี้มีปริมาณของแข็งที่ใกล้เคียงกันและผลิตภายใต้ภาวะเดียวกัน การเติมสารสกัดจากขิงและข่าจึงไม่มีผลต่อความหนาของตัวอย่างฟิล์ม

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Nuthong *et al.* (2009) ซึ่งพบว่าการเติมกรดแทนนิก กรดแคฟเฟอิก และกรดเฟรูลิก ไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์มพลาสมาโปรตีนจากสุกร

ความหนาเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อสมบัติด้านอื่นๆของฟิล์ม เช่น สมบัติเชิงกล ความโปร่งแสง และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในงานวิจัยนี้มีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังนั้นสมบัติด้านใดด้านหนึ่งที่อาจแตกต่างกันของตัวอย่างฟิล์มจึงไม่ได้เป็นผลมาจากความหนา

ตารางที่ 4. 1 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	ความหนา (มิลลิเมตร)^{ns}
Control	0	0.139 ± 0.011
Ginger-UNOX	2	0.145 ± 0.011
	5	0.153 ± 0.027
	10	0.145 ± 0.006
Ginger-OX	2	0.152 ± 0.024
	5	0.170 ± 0.027
	10	0.176 ± 0.030
Galanga-UNOX	2	0.157 ± 0.001
	5	0.174 ± 0.014
	10	0.168 ± 0.001
Galanga-OX	2	0.153 ± 0.023
	5	0.160 ± 0.015
	10	0.170 ± 0.036

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

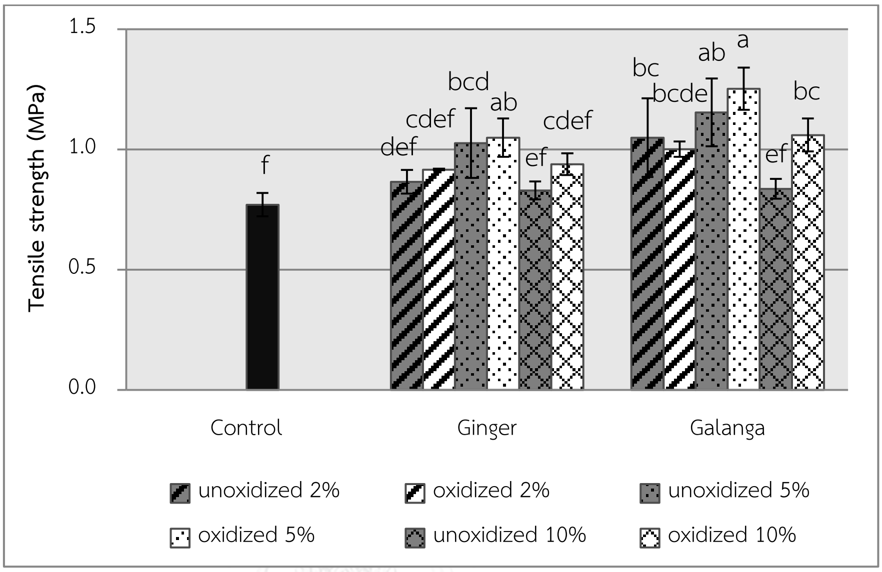
^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.1.2 สมบัติเชิงกล

ในงานวิจัยนี้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าในรูปความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาด ความต้านทานแรงดึงขาดแสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่าการเติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์หรือสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ในปริมาณ 2% ไม่มีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง แต่เมื่อปริมาณของสารสกัดขิงทั้งแบบที่ไม่ออกซิไดส์และที่ออกซิไดส์เพิ่มเป็น 5% ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณของสารสกัดขิงทั้งแบบที่ไม่ออกซิไดส์และที่ออกซิไดส์เพิ่มขึ้นเป็น 10% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลงอีกครั้งหนึ่งโดยมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าพบว่าโดยทั่วไปตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดข่ามีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) ยกเว้นตัวอย่างที่เติมสารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์เข้มข้น 10% ซึ่งแม้จะมีค่าความ

ต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมแต่ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดข่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความต้านทานแรงดึงขาดในทำนองเดียวกับฟิล์มที่เติมสารสกัดขิง กล่าวคือโดยทั่วไปความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 5% และเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นถึง 10% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง

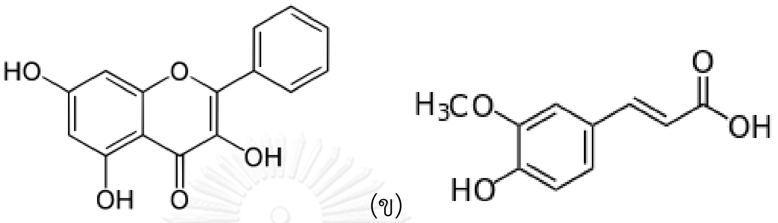


รูปที่ 4. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสถานะออกซิเดชันที่ต่างกันของสารสกัดจากขิงและข่า โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ อย่างไรก็ตามค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (รูปที่ 4.1) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากพืชต่างชนิด พบว่าที่ความเข้มข้นและสถานะออกซิเดชันของสารสกัดเดียวกัน โดยทั่วไปฟิล์มที่เติมสารสกัดข่ามีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ขิง อย่างไรก็ตามค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

สำหรับสารฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบของขิงและข่า Lu *et al.* (2011) วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในเครื่องเทศที่ใช้อย่างแพร่หลายในประเทศจีน 19 ชนิด ซึ่งรวมถึงขิงและข่า และรายงานว่าข่าเป็นเครื่องเทศที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 58.25 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ขิงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำกว่า (9.20 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง) สารประกอบฟีนอลิกหลักในข่า ได้แก่ กาแลนกิน (galangin) ส่วนสารประกอบฟีนอลิกหลักในขิง ได้แก่ กรดเฟรูลิก จากโครงสร้างโมเลกุลของ

สารประกอบฟีนอลิกทั้งสองชนิด (รูปที่ 4.2) จะเห็นได้ว่ากาแลนกินมีหมู่ไฮดรอกซีจำนวน 3 หมู่ ในขณะที่กรดเฟรูลิกมีหมู่ไฮดรอกซีเพียง 1 หมู่ Rawel *et al.* (2002) เสนอว่าสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนได้แตกต่างกัน นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดยังมีความสามารถในการทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนได้ต่างกันด้วย ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่าจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซี รวมทั้งความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกที่จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นควิโนน ส่งผลต่อความว่องไวของสารประกอบฟีนอลิกนั้นๆ ในการทำปฏิกิริยากับโปรตีน โดยความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนหมู่ไฮดรอกซีเพิ่มขึ้น


(ก) (ข)

รูปที่ 4. 2 โครงสร้างทางเคมีของ (ก) กาแลนกิน และ (ข) กรดเฟรูลิก

ก่อนหน้านี้ได้มีรายงานเกี่ยวกับผลของชนิดของสารประกอบฟีนอลิกหรือชนิดของสารสกัดจากพืชที่มีฟีนอลิก ความเข้มข้น และสถานะออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนชนิดต่างๆ ตัวอย่างเช่น Prodpran *et al.* (2012) ศึกษาผลของการเติมสารประกอบฟีนอลิกต่อสมบัติของฟิล์มไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากปลาตาหวาน สารประกอบฟีนอลิกที่ใช้ ได้แก่ กรดแคฟเฟอิก กรดเฟรูลิก กรดแทนนิก และแคทีคิน แปรความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 3 และ 5% โดยน้ำหนักของโปรตีน ผู้วิจัยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น โดยกรดแทนนิกมีประสิทธิภาพสูงสุดในการปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม ผู้วิจัยอธิบายว่าหมู่ไฮดรอกซีของสารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้กับหมู่ต่างๆ ในสายพอลิเพปไทด์ เช่น หมู่คาร์บอนิล หมู่อะมิโน และหมู่ข้างที่มีขั้ว (polar side group) ของกรดอะมิโน นอกจากนี้สารประกอบ ฟีนอลิกยังสามารถถูกออกซิไดส์ได้เป็นควิโนนซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของสายพอลิเพปไทด์ เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์คาร์บอน-ไนโตรเจน (C-N) และพันธะโควาเลนต์คาร์บอน-ซัลเฟอร์ (C-S)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

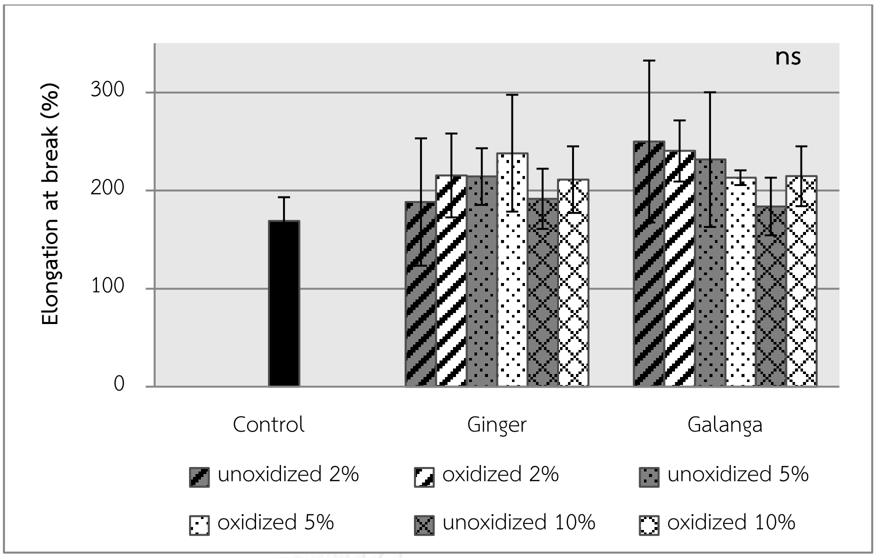
Wu *et al.* (2013) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาเขียวต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาลิ่น (silver carp) พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น ผู้วิจัยเสนอว่าความแข็งแรงเชิงกลที่เพิ่มขึ้นนี้เป็นผลมาจากพันธะไฮโดรเจนและอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างเจลาตินและสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดชาเขียว นอกจากนี้ Hoque *et al.* (2011) ซึ่งศึกษาผลของการเติมสารสกัดเครื่องเทศ 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย กานพลู

และโป๊ยกั๊ก ต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินจากหนังหมึกกระดองก็รายงานผลในทำนองเดียวกัน

อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าปริมาณฟีนอลิกหรือควิโนนที่มากเกินไปอาจส่งผลเชิงลบต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน โดยที่ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่สูง อาจเกิดการจับกันของโปรตีน (protein aggregation) อย่างรวดเร็ว ทำให้โครงร่างแหของโปรตีนมีความเป็นระเบียบลดลง Wang *et al.* (2013) นอกจากนี้ de Freitas and Mateus (2001) ยังเสนอว่าเมื่อเติมสารประกอบฟีนอลิกที่ความเข้มข้นสูง อาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดพอลิเมอไรเซชัน มีการรวมตัวของฟีนอลิกด้วยกันเองโดยไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับโปรตีน ทำให้ไม่มีการเชื่อมข้ามโปรตีนเกิดขึ้น

รูปที่ 4.3 แสดงการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า แม้ว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดจะมีค่าการยืดตัวถึงจุดขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม แต่การยืดตัวถึงจุดขาดของทุกตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) Guilbert *et al.* (1995) เสนอว่าการยืดตัวถึงจุดขาดไม่ได้ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ แต่ขึ้นอยู่กับระยะระหว่างหมู่ที่เกิดอันตรกิริยากันของโมเลกุลพอลิเมอร์ การเกิดพันธะเชื่อมข้ามแม้จะทำให้ความแข็งแรงของอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลทำให้ระยะระหว่างหมู่ที่เกิดอันตรกิริยาเกิดการเปลี่ยนแปลง การเติมสารสกัดขิงและข่าซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นตัวเชื่อมข้ามจึงไม่ส่งผลสำคัญต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม

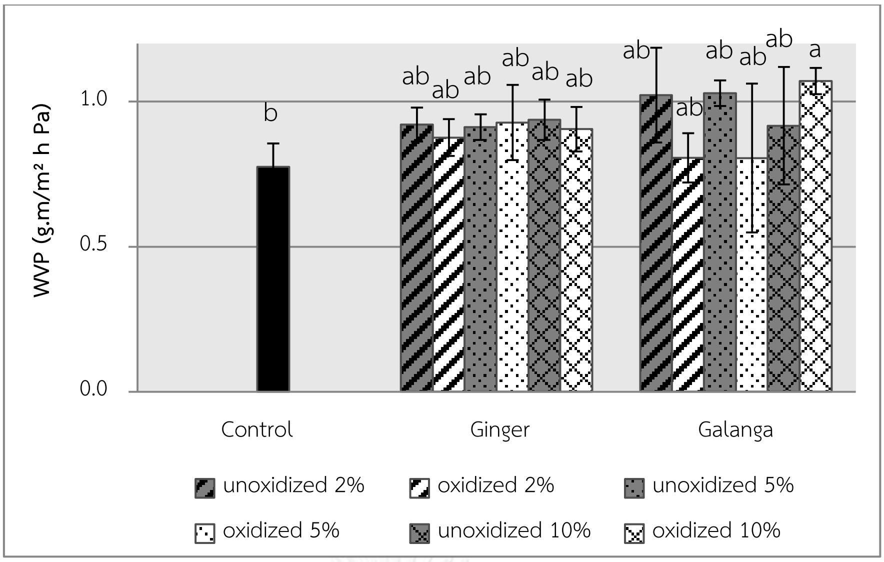
ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ou *et al*. (2005) ที่ศึกษาผลของกรดเฟรูลิกต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง โดยแปรความเข้มข้นของกรดเฟรูลิกเป็น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม/100 กรัม พบว่าความเข้มข้นที่ต่างกันของกรดเฟรูลิกไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง นอกจากนี้ Hoque *et al*. (2011) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากอบเชย กานพลูและโป๊ยกั๊ก ทั้งที่ไม่ออกซิไดส์และที่ออกซิไดส์ ต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินจากหนังหมึกกระดอง พบว่าการเติมสารสกัดเครื่องเทศไม่ส่งผลต่อค่าการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มดังกล่าว



รูปที่ 4. 3 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิ-ไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

4.1.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

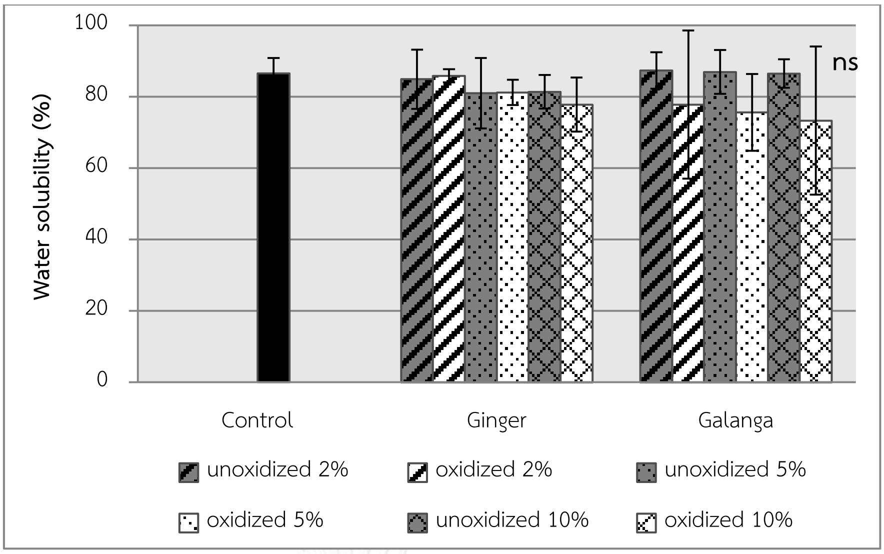
การเพิ่มขึ้นของอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนอาจส่งผลต่อสมบัติด้านการป้องกันการผ่านเข้าออกของไอน้ำ สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ยกเว้นฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ในปริมาณ 10% ซึ่งมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดถูกออกซิไดส์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นควิโนนซึ่งเป็นตัวเชื่อมข้ามที่มีประสิทธิภาพมาก ที่ความเข้มข้นของควิโนนสูงๆ อาจทำให้โปรตีนเกิดการจับกันอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้โครงร่างแหของโปรตีนมีความเป็นระเบียบลดลง และเมทริกซ์ของฟิล์มมีความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (inhomogeneous) ซึ่งทำให้ไอน้ำเคลื่อนที่ผ่านไปได้เร็วขึ้น (Prodpran *et al*., 2012; Wang *et al*., 2013)



รูปที่ 4. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

4.1.4 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.5 พบว่า ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณของสารสกัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามค่าที่ได้ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีรายงานการลดลงของความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนที่เติมสารประกอบฟีนอลิก (Hoque *et al.*, 2011; Rhim *et al.*, 2000) ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบกับหมู่มีขั้วของโปรตีนส่งผลให้หมู่ที่สมบัติชอบน้ำมีปริมาณลดลง นอกจากนี้เมื่อเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถในการละลายน้ำที่ลดลง จากงานวิจัยของ (Hoque *et al.*, 2011) ซึ่งศึกษาผลของสารสกัดจากอบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก รายงานในทำนองเดียวกันว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่มีฟีนอลิกมีความสารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม

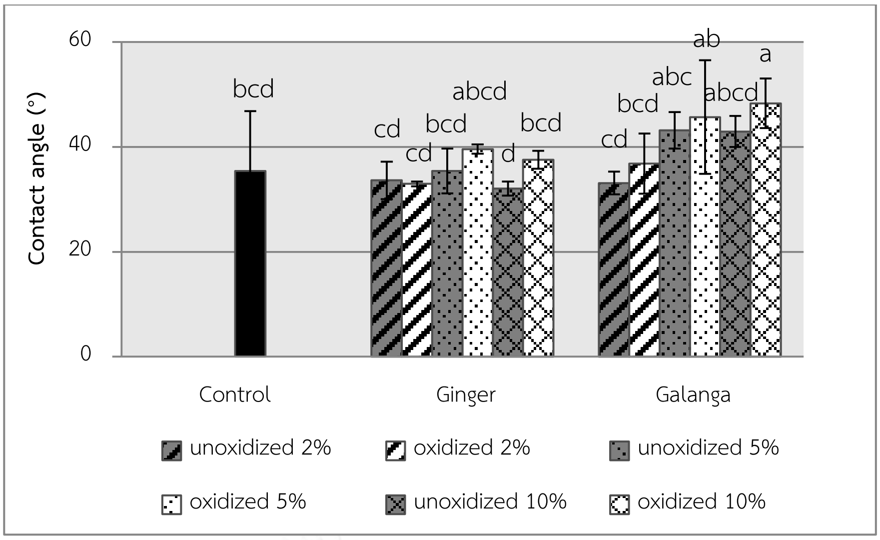


รูปที่ 4. 5 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

4.1.5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มแสดงถึงสมบัติความชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำของผิวฟิล์ม โดยหากผิวฟิล์มมีสมบัติชอบน้ำมากกว่า หยดน้ำจะแผ่ขยายสัมผัสกับผิวฟิล์มทำให้มุมสัมผัสมีค่าต่ำกว่า หากผิวฟิล์มมีความไม่ชอบน้ำมากกว่า หมู่ที่ไม่ชอบน้ำบนผิวฟิล์มจะป้องกันไม่ให้หยดน้ำแผ่ขยายบนผิวฟิล์ม มุมสัมผัสจึงมีค่าสูงกว่า

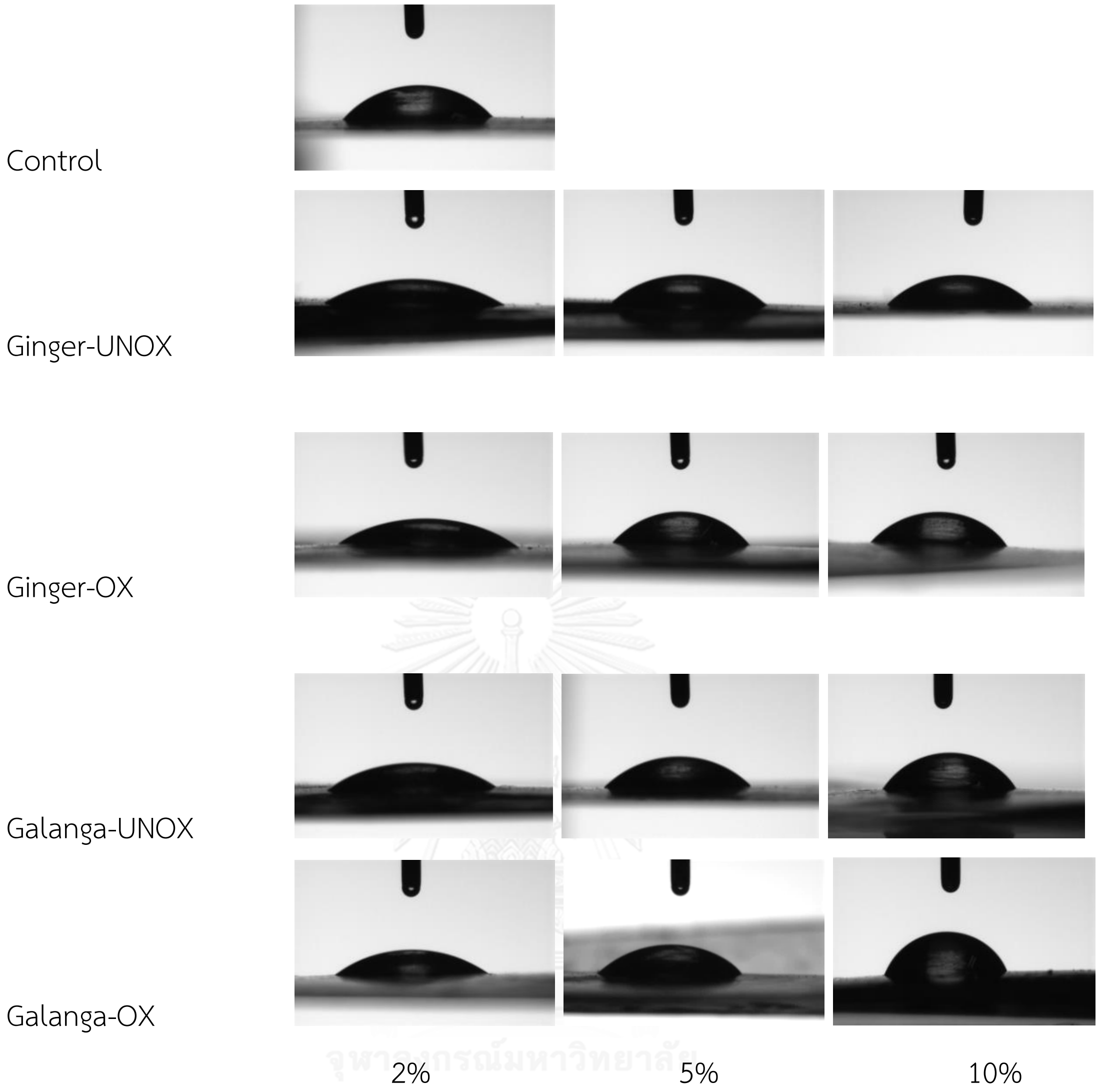
รูปที่ 4.6 และ 4.7 แสดงมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่า พบว่ามุมสัมผัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมในตัวอย่างที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ และในตัวอย่างที่เติมสารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์และที่ออกซิไดส์ อย่างไรก็ตามมุมสัมผัสของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ยกเว้นตัวอย่างที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ในปริมาณ 10%



รูปที่ 4. 6 มุมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ดังที่กล่าวแล้วว่าการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดขิงหรือข่ากับหมู่มีขั้วของโปรตีนถั่วเหลือง ทำให้ปริมาณของหมู่ที่มีสมบัติชอบน้ำลดลง ฟิล์มโปรตีนจึงมีสมบัติชอบน้ำลดลง งานวิจัยที่รายงานว่าการเชื่อมข้ามโปรตีนมีผลทำให้ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น ได้แก่ งานวิจัยของ Jiang *et al.* (2007) ซึ่งศึกษาดัดแปรสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แทรนส์กลูทามิเนสและรายงานว่าการใช้เอนไซม์ทำให้มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4. 7 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) สารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) สารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

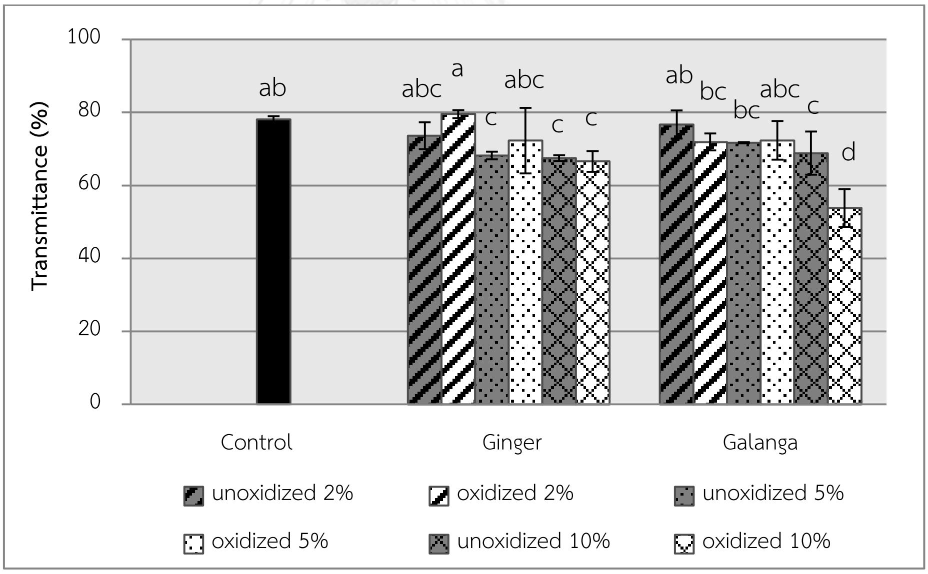
4.1.6 ความโปร่งแสง

รูปที่ 4.8 แสดงความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน พบว่าโดยทั่วไปตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามมีเพียงตัวอย่างที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงๆ ที่มีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งได้แก่ ตัวอย่างที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ 5% และตัวอย่างที่เติมสารสกัดในปริมาณ 10% ทุกตัวอย่าง โดยร้อยละของแสงส่องผ่านมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปพบว่าชนิดของพืชที่ใช้เตรียมสารสกัดและสถานะออกซิเดชันของ

สารสกัดไม่มีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์มมากนัก ความโปร่งแสงของฟิล์มที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน (González *et al*., 2011; Tang *et al*., 2005) นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ที่มีสีของปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและโปรตีน (Pierpoint, 1969)

สำหรับงานวิจัยก่อนหน้านี้ Tang *et al*. (2005) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยแทรนส์กลูทามิเนสมีความโปร่งแสงลดลง นอกจากนี้ González *et al*. (2011) รายงานในทำนองเดียวกันว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เชื่อมข้ามโดยเจนิพิน (genipin) มีความทึบแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเจนิพินเพิ่มขึ้น

Gómez-Estaca *et al*. (2009) ศึกษาการเติมสารสกัดจากโบเรจ (borage) ในฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาตาเดียว (sole) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากโบเรจส่งผลให้ตัวอย่างฟิล์มมีความทึบแสงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Prodpran *et al*. (2012) รายงานว่าการเชื่อมข้ามโปรตีนในฟิล์มไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากปลาตาหวานด้วยกรดแคฟเฟอิก แคเทชิน กรดเฟรูลิก และกรดแทนนิก ส่งผลให้ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มมีค่าลดลง



รูปที่ 4. 8 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์และออกซิไดส์ เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

4.1.7 สี (color)

ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงและข่าแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าค่า L* มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่า a* และ b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น มุมสีของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 80-90 องศา (ตารางที่ 4.3) ซึ่งเป็นค่าของมุมสีเหลือง (McGuire, 1992) อย่างไรก็ตามความเข้มสีของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าก็พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีสีเหลืองที่เข้มกว่าตัวอย่างควบคุม (รูปที่ 4.9) และความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดที่เติมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงมีความเข้มสีสูงกว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดข่า

สีของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดนี้อาจเป็นผลจากปัจจัยหลายประการ ทั้งสีตามธรรมชาติสารสกัดเอง สีของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดและเพปไทด์ สีของควิโนนที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งสีของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่ได้จากการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิกหรือควิโนน (Pierpoint, 1969)

Hoque *et al.* (2011) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากอบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก ต่อสมบัติด้านสีของฟิล์มเจลาตินจากหนังหมึกกระดอง พบว่าการเติมสารสกัดทำให้ *L** มีค่าลดลง ในขณะที่ *+b** มีค่าสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และ Nuthong *et al.* (2009) ศึกษาผลของการเติมกรดแทนนิก กรดแคฟเฟอิก และกรดเฟรูลิก ต่อสมบัติด้านสีของฟิล์มพลาสมาโปรตีนจากสุกร พบว่าการเติมกรดฟีนอลิกทำให้ฟิล์มมีค่า *L** ลดลง ในขณะที่ *+a** และ *+b** มีค่าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4. 2 CIE L*, a* และ b* ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	*L**	*a**	*b**
Control	0	86.37^{a} ± 0.31	-0.85^{i} ± 0.05	10.85^{efg} ± 1.10
Ginger-UNOX	2	85.48^{ab} ± 0.24	-0.80i ± 0.05	14.86^{cd} ± 1.34
	5	83.54^{cde} ± 1.45	-0.57^{hi} ± 0.25	20.72^{b} ± 3.98
	10	81.00^{f} ± 0.75	0.14^{g} ± 0.22	27.89^{a} ± 1.50
Ginger-OX	2	85.42^{ab} ± 1.27	-0.38^{h} ± 0.05	11.41^{def} ± 3.05
	5	84.17^{bcd} ± 1.22	0.28^{fg} ± 0.69	13.86^{de} ± 2.70
	10	82.42^{e} ± 1.27	0.85^{bcd} ± 0.18	17.42^{c} ± 2.45
Galanga-UNOX	2	86.43^{a} ± 0.97	0.51^{def} ± 0.10	8.42^{fg} ± 2.89
	5	85.28^{ab} ± 0.73	0.69^{cde} ± 0.06	10.45^{efg} ± 1.85
	10	84.07^{bcd} ± 1.87	1.13^{ab} ± 0.32	13.00^{de} ± 3.93
Galanga-OX	2	86.38^{a} ± 0.40	0.44^{efg} ± 0.05	7.57^{g} ± 0.60
	5	84.29^{bc} ± 0.82	0.88^{bc} ± 0.14	11.41^{def} ± 2.18
	10	82.73^{de} ± 0.46	1.42^{a} ± 0.09	14.01^{cde} ± 0.63

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c...}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

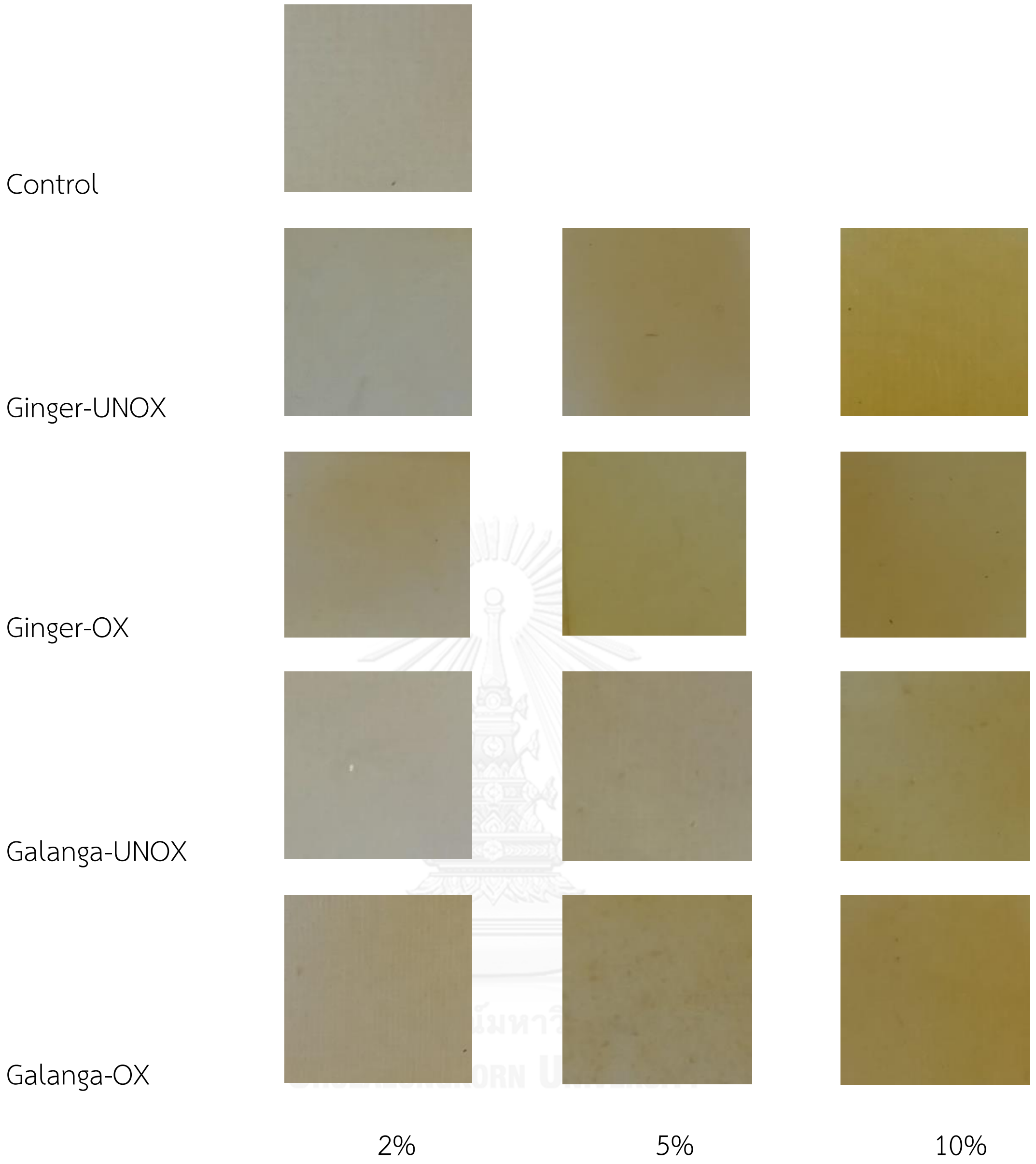
ตารางที่ 4. 3 มุมสีและความเข้มสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
Control	0	85.51^{efg} ± 0.35	10.88^{efg} ± 1.09
Ginger-UNOX	2	86.92^{bcde} ± 0.22	14.88^{cd} ± 1.33
	5	88.27^{b} ± 1.04	20.73^{b} ± 3.97
	10	89.63^{a} ± 0.32	27.89^{a} ± 1.51
Ginger-OX	2	87.90^{bc} ± 0.85	11.42^{def} ± 3.05
	5	87.17^{bcd} ± 0.93	13.88^{de} ± 2.70
	10	87.19^{bcd} ± 0.63	17.44^{c} ± 2.45
Galanga-UNOX	2	86.00^{def} ± 2.26	8.44^{efg} ± 2.88
	5	86.11^{def} ± 0.66	10.47^{efg} ± 1.85
	10	84.95^{fg} ± 0.70	13.05^{de} ± 3.94
Galanga-OX	2	86.66^{cde} ± 0.59	7.58^{g} ± 0.60
	5	85.55^{efg} ± 0.73	11.44^{def} ± 2.18
	10	84.19^{g} ± 0.21	14.08^{cde} ± 0.63

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b, c...] ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4. 9 ลักษณะปรากฏของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) สารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) สารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

4.1.8 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง

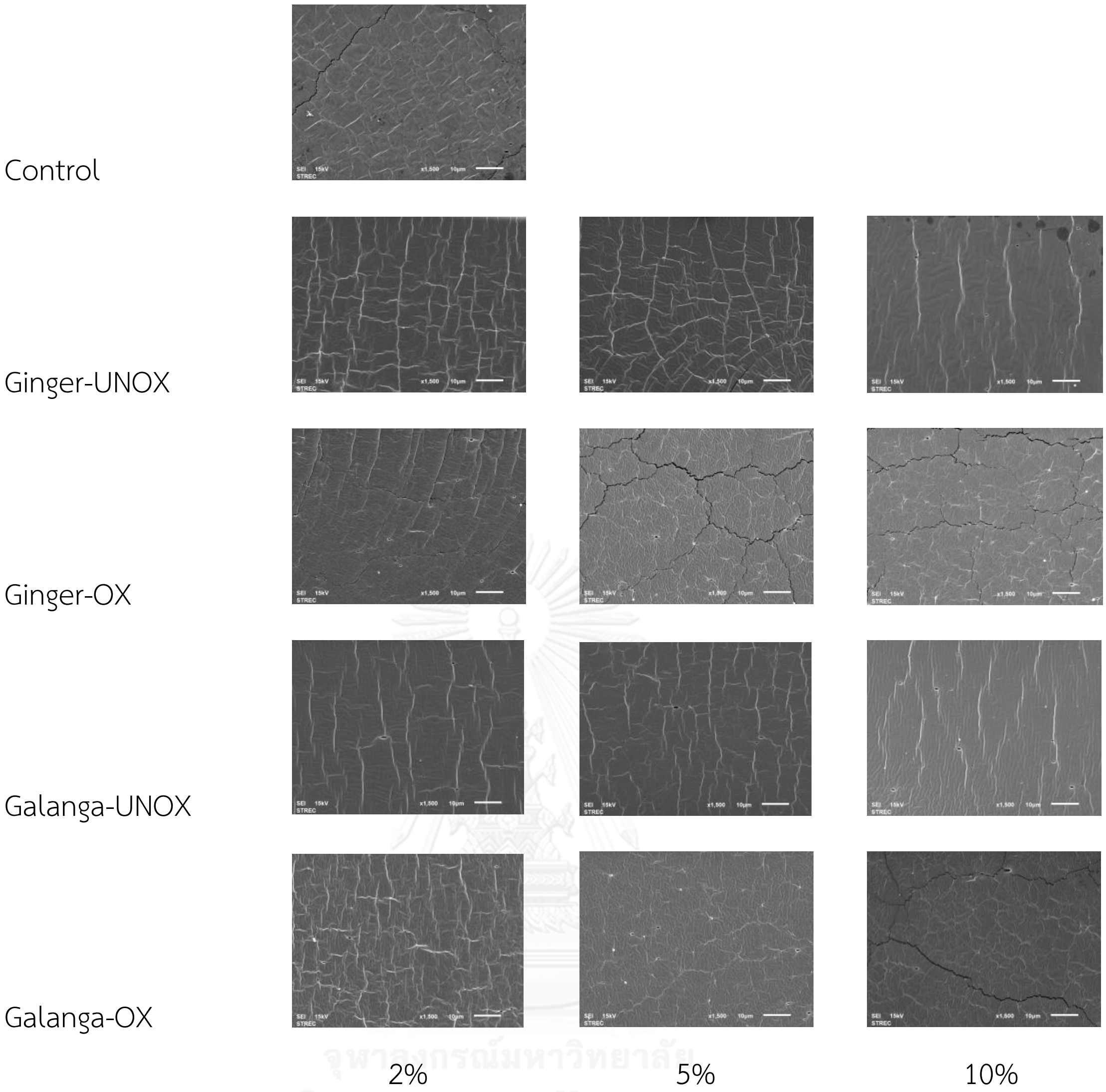
รูปที่ 4.10 แสดงโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มไม่แตกต่างกันมากนัก โดยเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างฟิล์มมีโครงสร้างที่หนาแน่นขึ้นเล็กน้อยซึ่งอาจเกิดจากการรวมตัวกันของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น

González *et al.* (2011) ศึกษาการใช้เจนิพินเชื่อมข้ามโปรตีนในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองและพบว่าเกิดการรวมตัวกันของโปรตีนเมื่อเติมเจนิพินในความเข้มข้นสูง Nuthong *et al.* (2009) รายงานว่าการเติมกรดแคฟเฟอิกที่ออกซิไดส์เข้มข้น 3% มีผลให้ฟิล์มพลาสมาโปรตีนจากสุกรมีโครงสร้างภาคตัดขวางที่หนาแน่นขึ้นโดยมีการรวมตัวกันของโปรตีนมากขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม Haslam (1989) เสนอว่าการรวมตัวกันของโปรตีนและความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้นซึ่งพบในโครงสร้างเกิดจากการเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน

4.1.9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีสารฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบแม้แต่ตัวอย่างควบคุม (24.00 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร) โดยสำหรับตัวอย่างควบคุมสารประกอบฟีนอลิกที่พบมาจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ใช้เป็นวัตถุดิบ Seo and Morr (1984) วิเคราะห์องค์ประกอบของสารฟีนอลิกในผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเหลืองและรายงานว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัดทางการค้ามีกรดฟีนอลิกในปริมาณ 467 ไมโครกรัม/กรัม และไอโซฟลาโวนอยด์ในปริมาณ 965 ไมโครกรัม/กรัม

ในงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ปริมาณฟีนอลิกที่วิเคราะห์ได้คือส่วนของฟีนอลิกที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับโปรตีน โดยตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมสารสกัดไม่ออกซิไดส์ เนื่องมาจากเมื่อเกิดออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิกจะถูกเปลี่ยนไปเป็นควิโนน (Rawel *et al.*, 2002) Wu *et al.* (2013) ศึกษาการเติมสารสกัดชาเขียว (0.3 และ 0.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของสารละลายฟิล์ม) ในฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาลิ่น พบว่าการเติมสารสกัดจากชาเขียวทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4. 10 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) สารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) สารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง ถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า

4.1.10 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

Salgado *et al.* (2010) ศึกษาสมบัติของฟิล์มจากโปรตีนเมล็ดดอกทานตะวันสกัดที่เตรียมในห้องปฏิบัติการ และรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนสกัดนอกจากจะมีบทบาทในการเชื่อมข้ามโปรตีนแล้ว สารประกอบฟีนอลิกส่วนเกินจากที่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย

ตารางที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านนออกซิเดชัน และโดยทั่วไปฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ โดยสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในขิง ได้แก่ กรดเฟรูลิก จิงเจอรอล เควอเซทิน รูทิน คาเทชิน เอพิคาเทชิน และนารินเจนิน (Cai *et al*., 2004; Ghasemzadeh *et al*., 2010; Lu *et al*., 2011) ส่วนในข่าพบว่ามี กรดแกลลิก กรดเฟรูลิก แทนนิน และกาแลนกิน (Cai *et al*., 2004; Nampoothiri *et al*., 2015) ส่วนในโปรตีนถั่วเหลืองสกัดทางการค้าพบว่ามีกรดไซรินจิก กรดเฟรูลิก กรดซินาปิก เดดซิน (daidzin) และเจนิสทิน (genistin) (Seo and Morr, 1984) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้ล้วนมีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Chan *et al*., 2011; Habsah *et al*., 2000; Sabli *et al*., 2012)

Wu *et al*. (2013) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาลิ่นที่เติมสารสกัดจากชาเขียวโดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay พบว่าปริมาณสารสกัดจากชาเขียวเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น โดยผู้วิจัยเสนอว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นนี้เป็นผลจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเติมสารสกัดจากชาเขียว Norajit *et al*. (2010) เสนอว่าบทบาทของสารประกอบฟีนอลิกในการต้านออกซิเดชันเนื่องมาจากสมบัติในการเป็นรีดิวซิงเอเจนต์ ตัวให้โปรตอน (proton donor) และตัวยับยั้งซิงเกล็ตออกซิเจน (singlet oxygen quencher)

ตารางที่ 4. 4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร)	FRAP (มิลลิโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)	DPPH (ไมโครโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)
Control		24.00^{f} ± 2.12	0.029^{cd} ± 0.006	8.75^{d} ± 2.12
Ginger-UNOX	2	63.75^{bc} ± 0.35	0.053^{abc} ± 0.003	18.40^{cd} ± 6.33
	5	72.75^{ab} ± 1.06	0.060^{ab} ± 0.028	18.42^{cd} ± 6.01
	10	81.75^{a} ± 0.35	0.073^{a} ± 0.001	34.22^{b} ± 1.34
Ginger-OX	2	34.75^{ef} ± 0.35	0.039^{bcd} ± 0.009	10.38^{d} ± 1.41
	5	53.50^{cd} ± 0.71	0.037^{bcd} ± 0.007	10.13^{d} ± 2.47
	10	57.50^{c} ± 5.66	0.035^{cd} ± 0.010	17.88^{cd} ± 7.07
Galanga-UNOX	2	41.25^{de} ± 0.90	0.031^{cd} ± 0.001	15.25^{cd} ± 5.89
	5	51.50^{cd} ± 3.15	0.033^{cd} ± 0.004	22.25^{c} ± 2.12
	10	70.65^{ab} ± 11.81	0.046^{bcd} ± 0.001	50.00^{a} ± 0.35
Galanga-OX	2	30.88^{ef} ± 5.48	0.026^{d} ± 0.014	10.17^{d} ± 8.49
	5	35.25^{ef} ± 0.35	0.025^{d} ± 0.009	13.97^{cd} ± 2.42
	10	43.25^{de} ± 7.15	0.025^{d} ± 0.012	12.27^{cd} ± 4.10

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c...}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

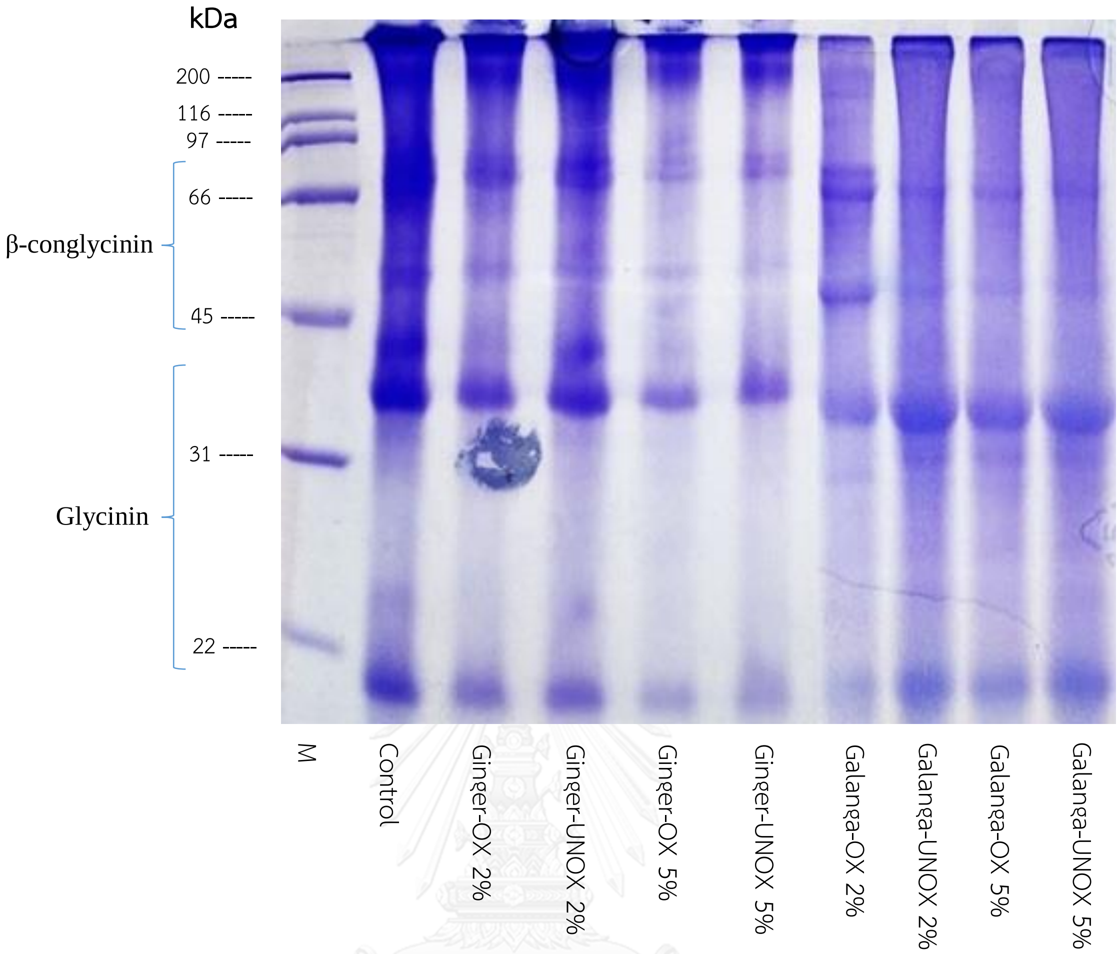
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.1.11 รูปแบบของแถบโปรตีน

สำหรับงานวิจัยนี้ได้ติดตามการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ในตัวอย่างฟิล์มด้วย reducing SDS-PAGE ซึ่ง Strauss and Gibson (2004) เสนอว่าควิโนนที่ได้จากออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนและซัลฟ์ไฮดริลของกรดอะมิโนที่เป็นหน่วยย่อยของโปรตีนและทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจนและพันธะคาร์บอน-ซัลเฟอร์ ในขั้นตอนนี้ตัวอย่างที่เลือกมาศึกษา ได้แก่ ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์และที่ไม่ออกซิไดส์เข้มข้น 2 และ 5% และตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์และที่ไม่ออกซิไดส์เข้มข้น 2 และ 5% (รูปที่ 4.11)

โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีนถั่วเหลือง ได้แก่ ไกลซินินและเบตา-คอนไกลซินิน ไกลซินินของถั่วเหลืองประกอบด้วยหน่วยย่อยชนิดกรด (acidic subunit) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 36 กิโลดาลตัน และหน่วยย่อยชนิดเบส (basic subunit) ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 24 กิโลดาลตัน (Liu, 2012; Ly *et al.*, 1998) สำหรับเบตา-คอนไกลซินินประกอบด้วยหน่วยย่อย α', α และ β ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 84, 66 และ 45 กิโลดาลตัน ตามลำดับ (Tang *et al.*, 2006)

จากรูปที่ 4.11 จะเห็นว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีความเข้มของแถบโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม และแถบโปรตีนมีความเข้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมสารสกัดที่ออกซิไดส์ส่งผลให้ความเข้มของแถบโปรตีนลดลงได้มากกว่าการเติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ เป็นที่น่าสังเกตว่าในตัวอย่างที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ยังคงพบว่ามีความเข้มของแถบโปรตีนต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ทั้งที่สารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ออกซิไดส์จะส่งเสริมการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนโดยกลไกการเกิดพันธะไฮโดรเจนและอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (Hoque *et al.*, 2011) ซึ่งเป็นอันตรกิริยาชนิดน็อน-โควาเลนต์ พันธะโควาเลนต์ที่เชื่อมข้ามโปรตีนในตัวอย่างที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์จนทำให้ความเข้มของแถบโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงน่าจะเกิดจากการขึ้นรูปฟิล์มภายใต้ภาวะที่มีออกซิเจนซึ่งอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนเกิดออกซิเดชันไปเป็นควิโนนและทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ได้



รูปที่ 4. 11 รูปแบบแถบโปรตีนของตัวอย่างควบคุม (Control) ฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) และสารสกัดขิงที่ไม่ออกซิไดส์ (Ginger-UNOX) เข้มข้น 2 และ 5% และฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) และสารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (Galanga-UNOX) เข้มข้น 2 และ 5% โดย M คือ protein molecular weight markers

ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Balange and Benjakul (2009) ซึ่งศึกษาผลของฟลาโวนอยด์ต่อโปรตีนถั่วเหลือง เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE พบว่าการเติมฟลาโวนอยด์ส่งผลให้แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความเข้มลดลง นอกจากนี้ Balange and Benjakul (2009) ซึ่งศึกษาผลของการเติมสารประกอบฟีนอลิกในเจลซูริมิปลาแมคเคอเรล พบว่าการเติมสารประกอบฟีนอลิกส่งผลให้ความเข้มของแถบไมโอซินสายหนักและแอกตินซึ่งเป็นโปรตีนหลักในซูริมิมีค่าลดลง ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่าเกิดจากการเชื่อมข้ามของโปรตีนดังกล่าวด้วยสารประกอบฟีนอลิก

Prodpran *et al*. (2012) ศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กรดแคฟเฟอิก คาเทชิน กรดเฟรูลิก และกรดแทนนิก ต่อสมบัติของฟิล์มไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากปลาตาหวาน และได้ติดตามการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยวิเคราะห์รูปแบบแถบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE ผู้วิจัยรายงานว่าแถบของไมโอซินสายหนักมีความเข้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่าการเติมสารประกอบฟีนอลิกทำให้การเชื่อมข้ามของโปรตีน

4.2 ผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่า

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากขิงและข่าต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองในข้อ 4.1 พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุดในกลุ่มของตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากพืชแต่ละชนิด ดังนั้นจึงคัดเลือกฟิล์ม 2 ตัวอย่างนี้มาศึกษาในส่วนของการศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าต่อไป

สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง ได้แปรอุณหภูมิการทำแห้งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยมีฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เป็นตัวอย่างควบคุม

ในการผลิตตัวอย่างฟิล์ม ขั้นตอนแรกคือการสร้างกราฟการอบแห้งของตัวอย่างฟิล์มที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อให้สามารถระบุระยะเวลาการทำแห้งที่ให้ตัวอย่างฟิล์มที่มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 10% โดยน้ำหนักสด พบว่าระยะเวลาการทำแห้งที่ทำให้ฟิล์มโปรตีนที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ 5% มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 10% เมื่อทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ได้แก่ 290, 170 และ 170 นาที ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการทำแห้งที่ทำให้ฟิล์มโปรตีนที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ 5% มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 10% เมื่อทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ได้แก่ 300, 240 และ 180 นาที ตามลำดับ จากนั้นเตรียมตัวอย่างฟิล์มโดยใช้ภาวะดังกล่าวแล้วนำไปวิเคราะห์สมบัติเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งทำแห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (เท่ากับ 1440 นาที) ได้ผลวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

4.2.1 ความหนา

ตารางที่ 4.5 แสดงความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส จากที่กล่าวในข้อ 4.1.1 แล้วว่าปัจจัยที่มีผลต่อความหนาของฟิล์มคือปริมาณของแข็ง (Cuq *et al*., 1996; Galus *et al*., 2012) เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในขั้นตอนนี้มีปริมาณของแข็งที่ใกล้เคียงกันจึงมีความหนาที่

ใกล้เคียงกัน โดยตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงมีความหนาอยู่ในช่วง 0.162-0.170 มิลลิเมตร และฟิล์มที่เติมสารสกัดข่ามีความหนาอยู่ในช่วง 0.159-0.175 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4. 5 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ความหนา (มิลลิเมตร)	
	สารสกัดขิง ^{ns}	สารสกัดข่า ^{ns}
Control	0.170 ± 0.027	0.160 ± 0.015
50 °C	0.166 ± 0.021	0.161 ± 0.034
60 °C	0.162 ± 0.030	0.159 ± 0.034
70 °C	0.170 ± 0.011	0.175 ± 0.020

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

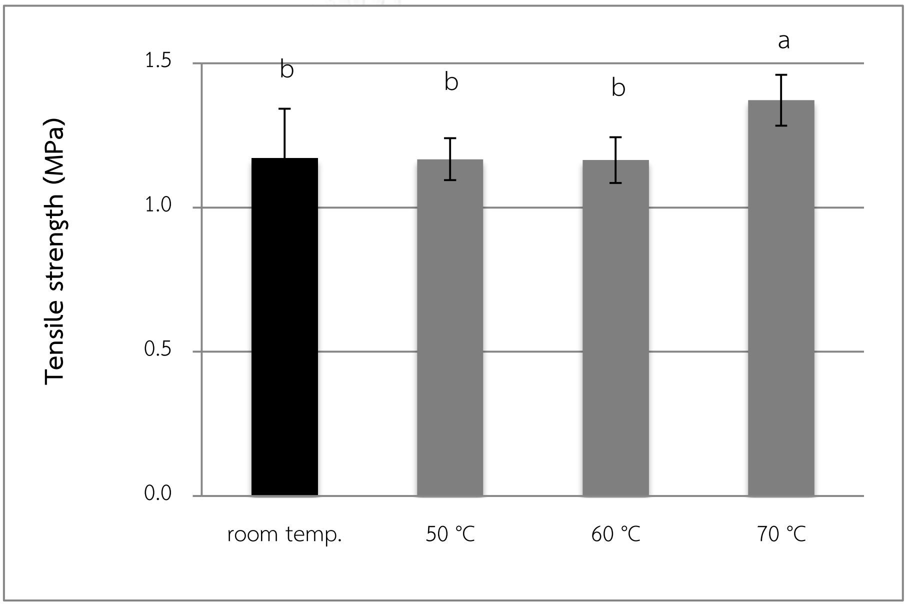
^{ns} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.2.2 สมบัติเชิงกล

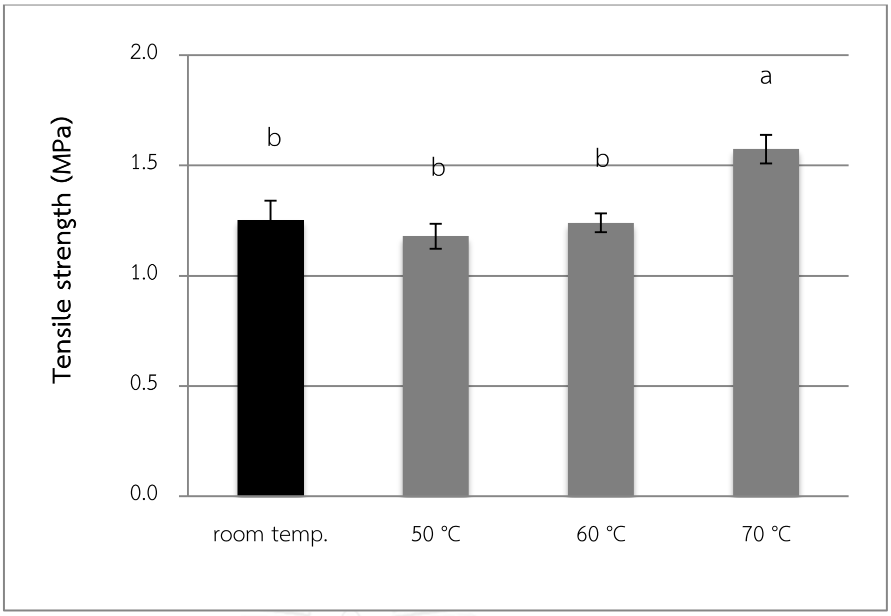
รูปที่ 4.12 และ 4.13 แสดงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) Jensen (1959) เสนอว่าความร้อนสามารถทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนเพิ่มขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ระหว่างการให้ความร้อนแก่โปรตีนในภาวะที่เป็นเบส พันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะโควาเลนต์ซึ่งมีค่าพลังงานพันธะสูงจึงมีความแข็งแรงกว่าอันตรกิริยาน็อน-โควาเลนต์ เช่น พันธะไฮโดรเจน ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hernández-Muñoz *et al*. (2004b) ซึ่งศึกษาผลของการให้ความร้อนแก่ฟิล์มไกลอะดินและกลูเตนินจากข้าวสาลีที่อุณหภูมิ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

เช่นเดียวกับ Denavi *et al.* (2009) ซึ่งศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งฟิล์มที่เตรียมจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดทางการค้าและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เตรียมในห้องปฏิบัติการ พบว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ทำแห้งที่อุณหภูมิสูง (70 องศาเซลเซียส) มีความต้านทานแรงดึงขาดสูง

กว่าฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ (34 องศาเซลเซียส) ผู้วิจัยเสนอว่าระหว่างการทำแห้งโดยใช้ความร้อน โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง ระดับการคลายตัวของสายพอลิเพปไทด์มีส่วนกำหนดชนิดและอัตราส่วนของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายพอลิเพปไทด์ ได้แก่ พันธะโควาเลนต์ (พันธะไดซัลไฟด์) และอันตรกิริยาน็อน-โควาเลนต์อื่นๆ (ได้แก่ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก อันตรกิริยาไอออนิก และพันธะไฮโดรเจน) โดยเมื่อโปรตีนเกิดการเสียสภาพมากขึ้นจะส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างสายพอลิเพปไทด์ได้ง่ายขึ้นและแข็งแรงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ (Mauri and Añón, 2006) นอกจากนี้ Gennadios *et al*. (1996) ได้อธิบายว่าการให้ความร้อนกับฟิล์มโปรตีนสามารถทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าสูงขึ้นจากการเชื่อมข้ามของโครงสร้างโปรตีนที่ถูกกระตุ้นโดยความร้อน

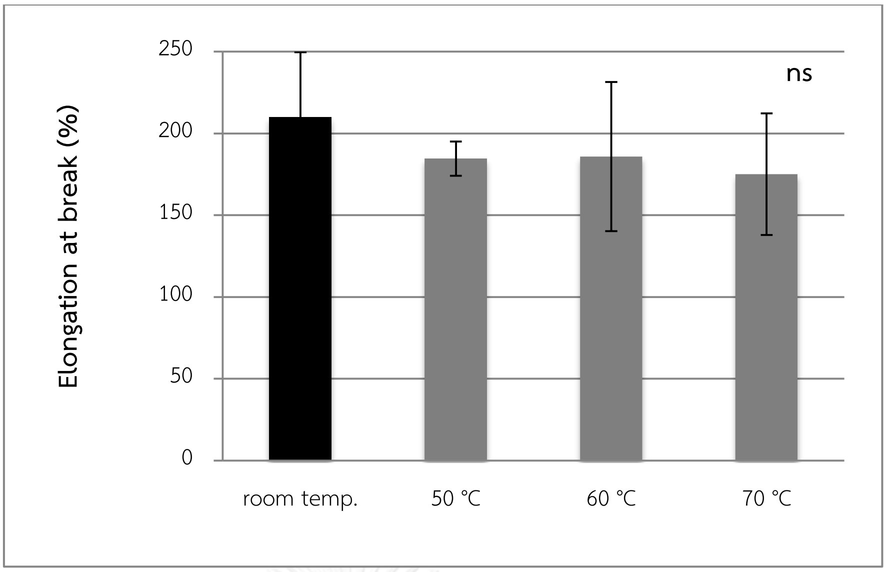


รูปที่ 4. 12 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

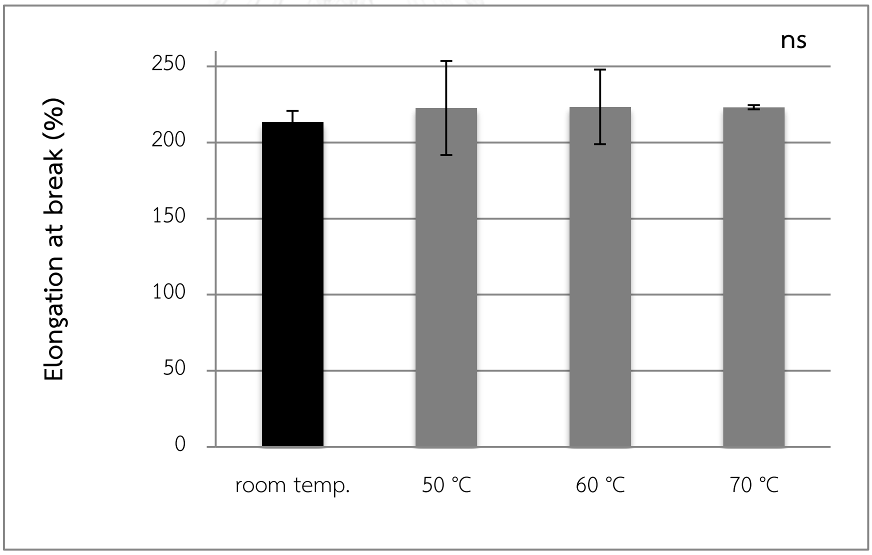


รูปที่ 4. 13 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

รูปที่ 4.14 และ 4.15 แสดงการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิการทำแห้งไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์ ($p>0.05$) Guilbert *et al*. (1995) เสนอว่าการยืดตัวถึงจุดขาดขึ้นอยู่กับระยะระหว่างหมู่ที่เกิดอันตรกิริยาของโมเลกุลพอลิเมอร์ โดยมิได้ขึ้นกับความแข็งแรงของอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ ดังนั้นการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนที่เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลจากการเหนี่ยวนำด้วยความร้อน จึงไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาด



รูปที่ 4. 14 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

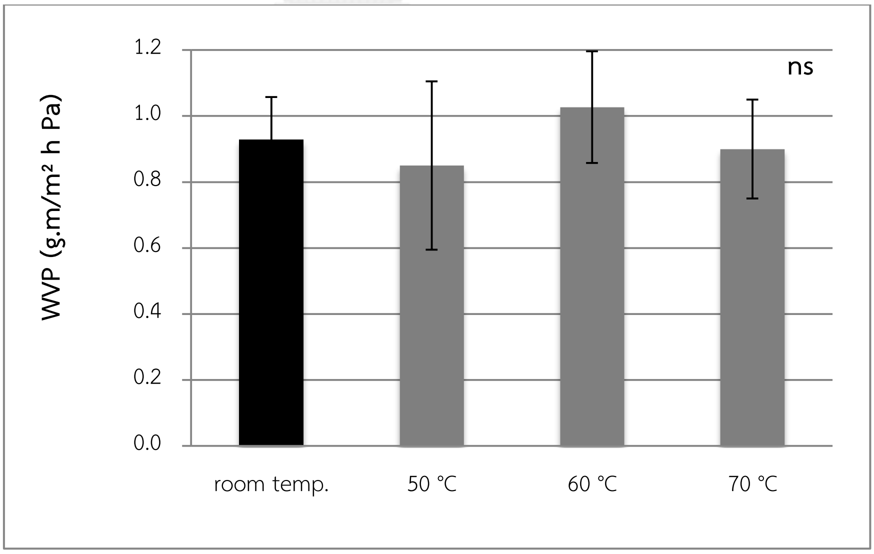


รูปที่ 4. 15 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

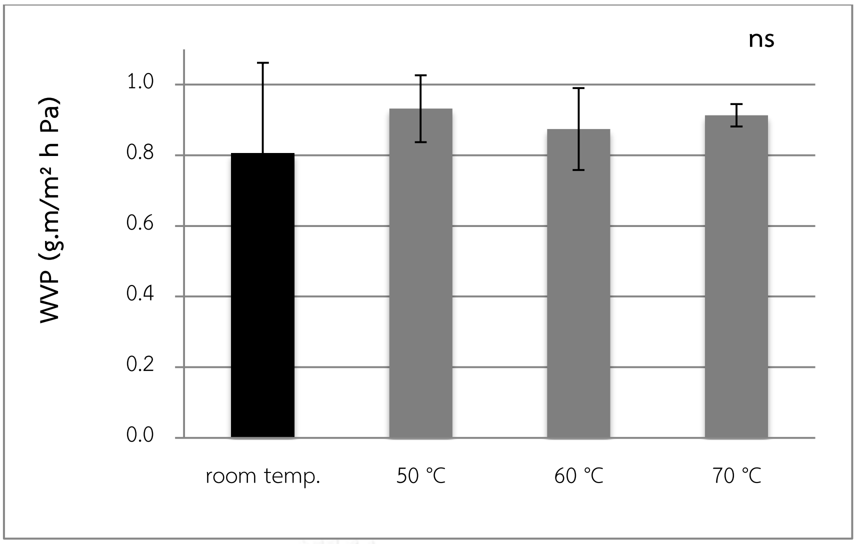
4.2.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

รูปที่ 4.16 และ 4.17 แสดงสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าอุณหภูมิการทำแห้งไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่าง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความร้อนอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ส่งผลตรงกันข้ามต่อสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ โดยความร้อนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่มีความหนาแน่นมากขึ้น ไอน้ำจึงซึมผ่านได้ยากขึ้น (Gennadios *et al*., 1996) อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีน ส่งผลให้โครงสร้างของเมทริกซ์ฟิล์มไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ไอน้ำจึงซึมผ่านได้ง่ายขึ้น

ผลที่ได้นี้ต่างจากรายงานก่อนหน้านี้ โดย Kim *et al*. (2002) พบว่าตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนมีสภาพให้ซึมผ่านของไอน้ำลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าความร้อนส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามของหน่วยย่อยกรดอะมิโนทั้งภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล (intra- and inter-molecular crosslink) ของโปรตีน ในทำนองเดียวกัน Gennadios *et al*. (1996) รายงานว่าการให้ความร้อนแก่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดลง โดยเป็นผลจากการเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างการให้ความร้อน



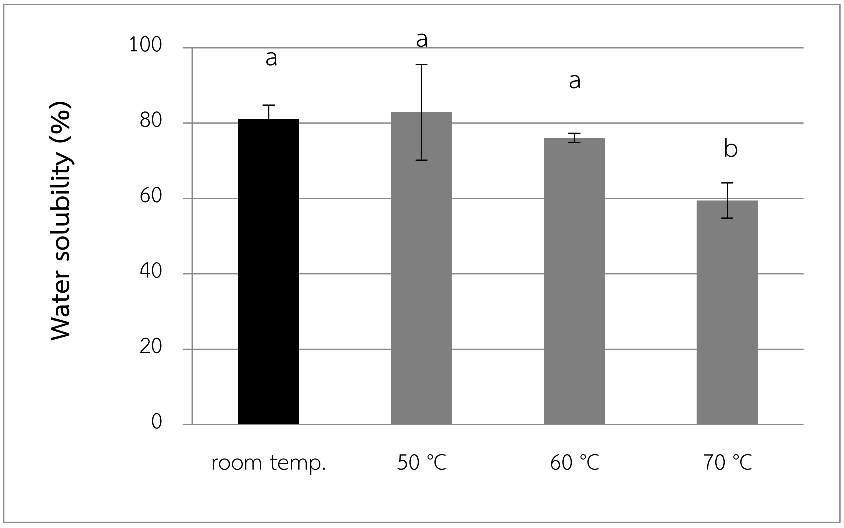
รูปที่ 4. 16 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)



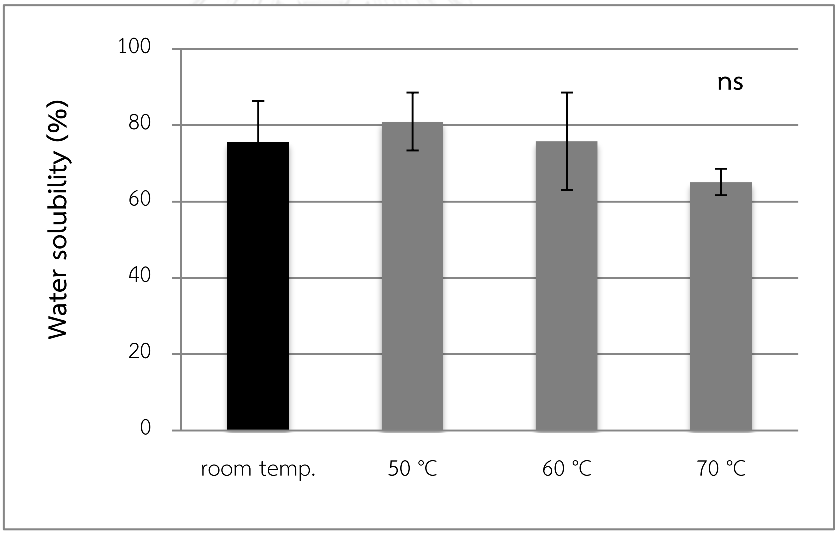
รูปที่ 4. 17 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

4.2.4 ความสามารถในการละลายน้ำ

รูปที่ 4.18 และ 4.19 แสดงความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์มีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิการทำแห้งเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.18) อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการละลายน้ำไม่ต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์และทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (รูปที่ 4.19) พบว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความสามารถในการละลายน้ำในทำนองเดียวกับตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ อย่างไรก็ตามความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิต่างกันมีค่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) การลดลงของความสามารถในการละลายน้ำอาจมีสาเหตุจากการเกิดการเชื่อมข้ามในปริมาณมากที่อุณหภูมิสูง ส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง



รูปที่ 4. 18 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)



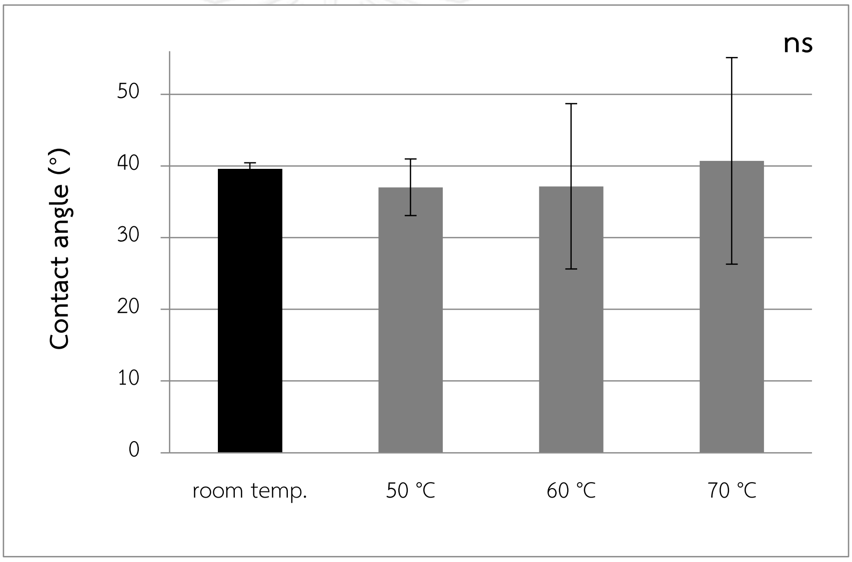
รูปที่ 4. 19 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ในด้านผลของความร้อนต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนนี้ ที่ผ่านมาได้มีรายงานที่แตกต่างกันไป ตัวอย่างเช่น Gennadios *et al*. (1996) รายงานว่าการให้ความร้อนแก่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มมีค่าต่ำกว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Hernández-Muñoz *et al*.

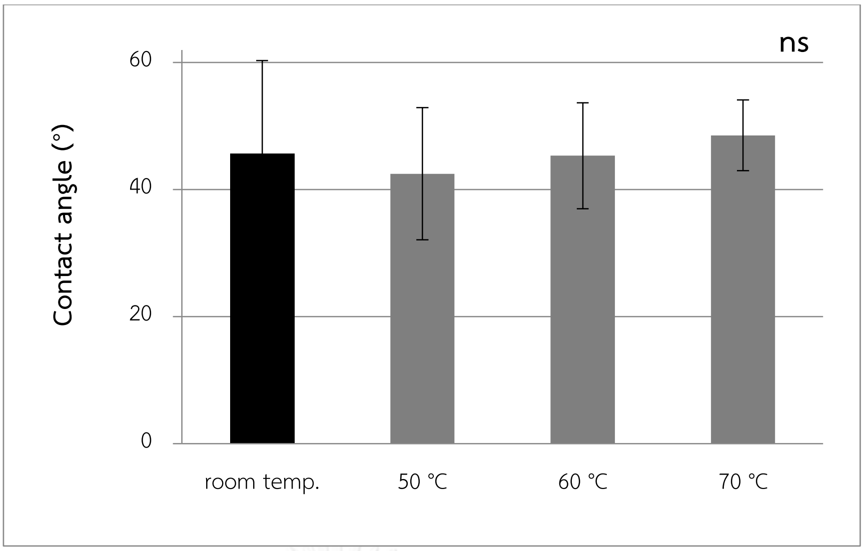
(2004b) รายงานว่าการให้ความร้อนแก่ฟิล์มกลูเต็นที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม

4.2.5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

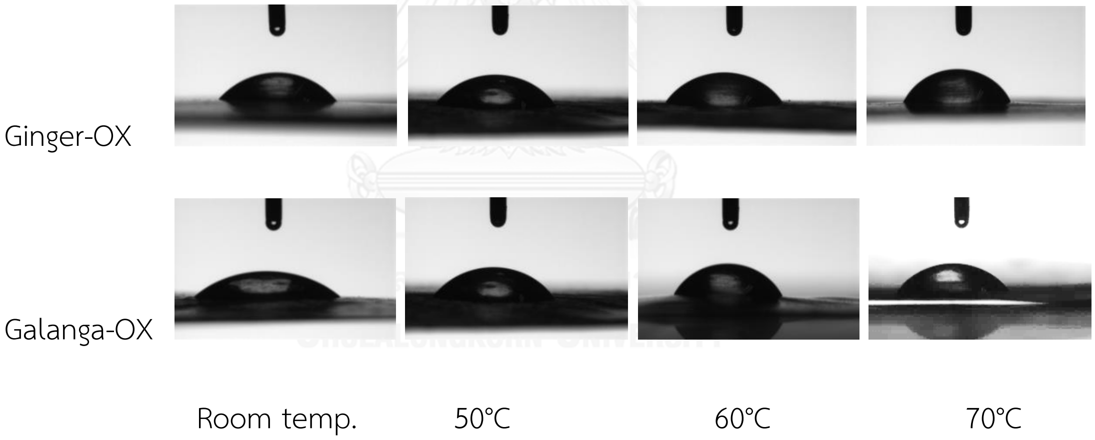
มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ไม่ออกซิไดส์และที่ออกซิไดส์ซึ่งทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงดังรูปที่ 4.20, 4.21 และ 4.22 แม้ว่าที่ผ่านมาจะมีงานวิจัยที่รายงานว่าการเชื่อมข้ามโปรตีนมีผลทำให้ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น (Jiang *et al.*, 2007) แต่ในงานวิจัยนี้พบว่าอุณหภูมิการทำแห้งไม่มีผลต่อค่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ก่อนหน้านี้ Tang *et al.* (2009) ศึกษาผลของการให้ความร้อนแก่ฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วแดง ถั่วแดงหลวง และถั่วเขียว ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสพบว่าการให้ความร้อนทำให้มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น



รูปที่ 4. 20 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)



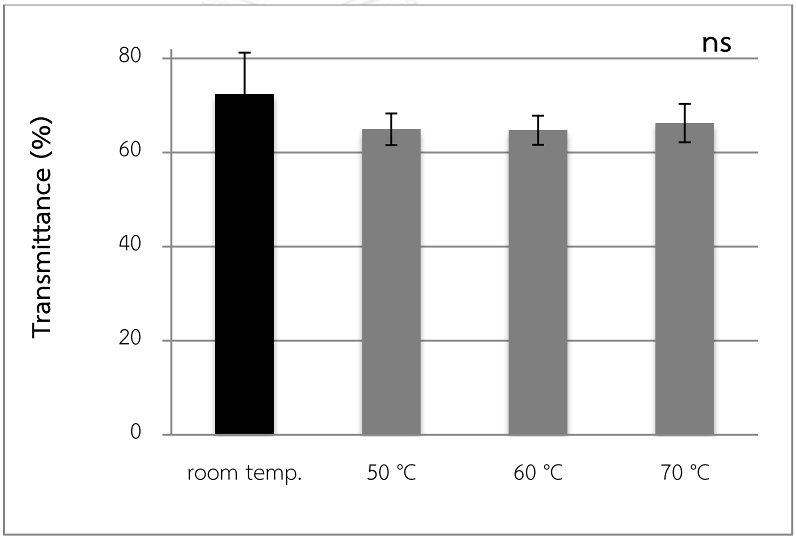
รูปที่ 4. 21 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)



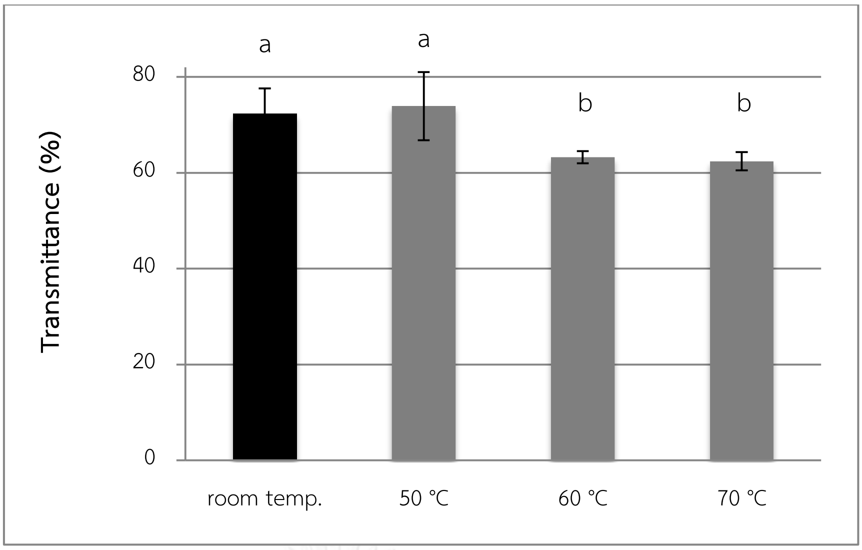
รูปที่ 4. 22 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์ เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

4.2.6 ความโปร่งแสง

ความโปร่งแสงของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านดังรูปที่ 4.23 และ 4.24 พบว่าค่าร้อยละของแสงส่องผ่านมีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิการทำแห้งเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าร้อยละของแสงส่องผ่านของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในขณะที่ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มที่เติมสารสกัดจากข่าและทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำกว่าฟิล์มชนิดเดียวกันที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และอุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ทั้งนี้การที่โปรตีนมีการรวมตัวกันมากขึ้นจนเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ อาจมีผลขัดขวางการส่องผ่านของแสงและทำให้ฟิล์มมีความโปร่งแสงลดลง (Denavi *et al.*, 2009; González *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2005)



รูปที่ 4. 23 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 4. 24 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

4.2.7 สี (color)

ตารางที่ 4.6 และ 4.7 แสดงค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มที่จะมีค่า L* ต่ำกว่า และ a* และ b* สูงกว่าตัวอย่างอื่นซึ่งทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า มุมสีของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 80-90 องศา ซึ่งเป็นค่าของมุมสีเหลือง (McGuire, 1992) และความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิการทำแห้งเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏดังแสดงในรูปที่ 4.25 Rhim *et al*. (2000) และ Kim *et al*. (2002) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีค่าสีเหลืองมากขึ้นเมื่อได้รับความร้อน สีที่เข้มขึ้นของตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิสูงอาจเป็นผลจากหลายปัจจัย เช่น สีของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดและเพปไทด์ สีของควิโนนที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งสีของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่ได้จากการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิกหรือควิโนน Pierpoint (1969) ซึ่งปฏิกิริยาต่างๆ เหล่านี้อาจถูกเร่งได้ในภาวะที่มีอุณหภูมิสูง

ตารางที่ 4. 6 CIE *L***, *a***, *b*** มุมสี และความเข้มสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	*L**	*a**^{ns}	*b**	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
Room temp.	84.17^{a} ± 1.22	0.28 ± 0.69	13.86^{b} ± 2.70	87.17^{c} ± 0.93	13.88^{b} ± 2.70
50 °C	85.02^{a} ± 0.92	0.42± 0.08	11.36^{c} ± 2.27	87.86^{b} ± 0.54	11.37^{c} ± 2.27
60 °C	84.12^{a} ± 0.97	0.51 ± 0.10	13.39^{bc} ± 1.98	87.84^{b} ± 0.17	13.39^{bc} ± 1.98
70 °C	82.95^{b} ± 0.76	0.44 ± 0.12	16.57^{a} ± 1.97	88.49^{a} ± 0.29	16.57^{a} ± 1.97

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c, ...}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

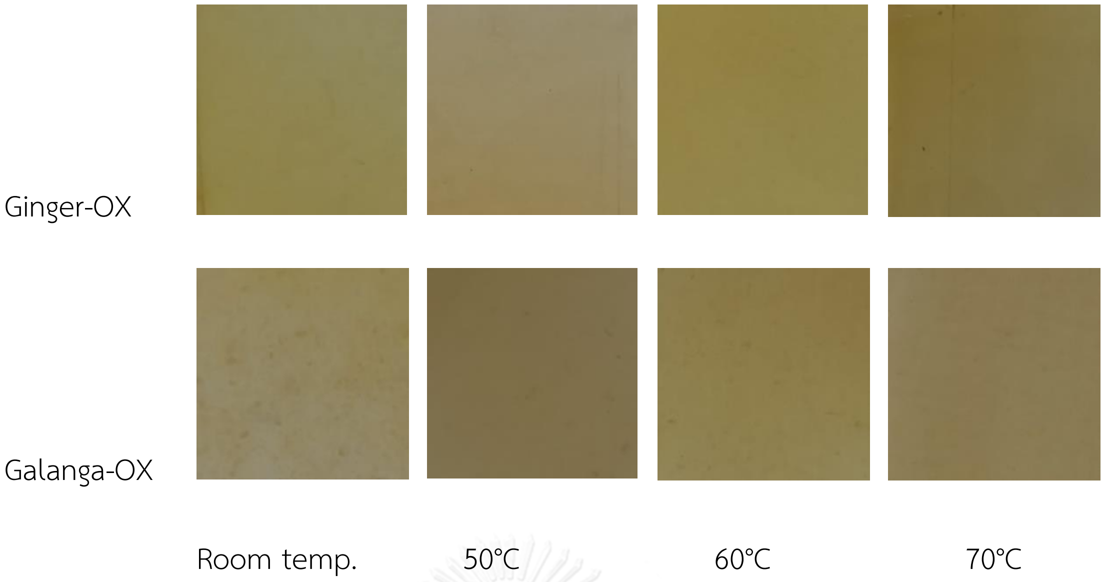
^{ns} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4. 7 CIE *L***, *a***, *b*** มุมสี และความเข้มสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	*L**	*a**	*b**	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
Room temp.	84.29^{a} ± 0.82	0.88^{b} ± 0.14	11.41^{bc} ± 2.18	85.55^{a} ± 0.73	11.44^{bc} ± 2.18
50 °C	84.31^{a} ± 0.95	0.96^{b} ± 0.11	10.90^{c} ± 1.58	84.91^{b} ± 0.46	10.94^{c} ± 1.58
60 °C	83.44^{ab} ± 1.19	1.01^{b} ± 0.23	13.11^{ab} ± 1.71	85.62^{a} ± 0.51	13.15^{ab} ± 1.72
70 °C	82.40^{b} ± 0.78	1.22^{a} ± 0.20	14.94^{a} ± 1.15	85.35^{ab} ± 0.44	14.99^{a} ± 1.17

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4. 25 ลักษณะปรากฏของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

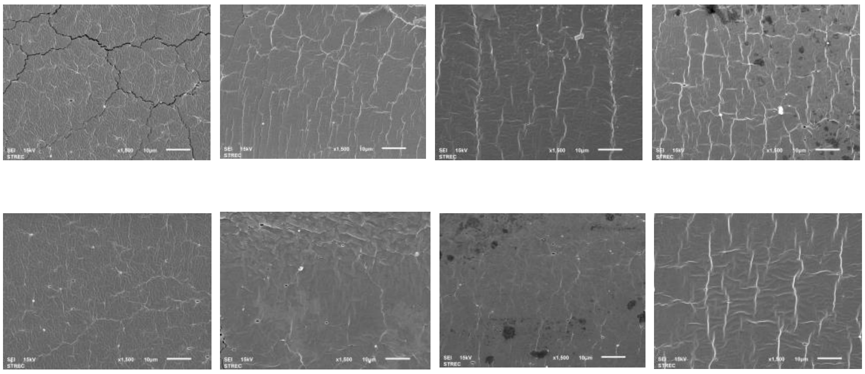
4.2.8 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสาร-สกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.26) พบว่าตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิสูงขึ้นมีเมทริกซ์ของฟิล์มที่หนาแน่นมากขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้องซึ่งอาจเป็นผลมาจากการรวมตัวกันของโปรตีนเมื่อได้รับความร้อน นอกจากนี้ยังพบโครงสร้างที่ไม่สม่ำเสมอเกิดเป็นรอยย่นในตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิสูงซึ่งอาจเกิดจากการหดตัวของฟิล์ม Wang *et al*. (2013) รายงานว่าฟิล์มเวย์โปรตีนที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-90 องศาเซลเซียส มีโครงสร้างที่แสดงให้เห็นถึงการรวมตัวกันของโปรตีนอย่างหนาแน่นมากขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Ginger-OX

Galanga-OX



Room temp. 50°C 60°C 70°C

รูปที่ 4. 26 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) ถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า

4.2.9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ 4.8 และ 4.9 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง พบว่าตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างไรก็ตามเมื่ออุณหภูมิการทำแห้งเพิ่มขึ้นเป็น 60 และ 70 องศาเซลเซียส ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกลับมีค่าลดลงอีกครั้งหนึ่ง ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่สูงมากนัก อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระ (free fraction) โดย Xu *et al.* (2007) รายงานว่าการให้ความร้อนมีผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระมีปริมาณเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอื่น ได้แก่ เอสเทอร์ ไกลโคไซด์ และรูปที่จับกับเอสเทอร์ มีปริมาณลดลง อย่างไรก็ตามการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงสามารถทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกจากความร้อนได้ (Larrauri *et al.*, 1997) Miranda *et al.* (2010) ศึกษาการอบแห้งเมล็ดคินัว (quinoa) ที่อุณหภูมิ 40-80 องศาเซลเซียส และรายงานว่าอุณหภูมิในการอบแห้งมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยความร้อนจะทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบเหล่านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ช่วงอุณหภูมิสูง (60-80 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้การลดลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอาจเนื่องมาจากการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของพอลิฟีนอลกับสารอื่นๆ เช่น โปรตีน หรือเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของพอลิฟีนอลิก Larrauri *et al.* (1997) เสนอว่า

กลไกของปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบฟีนอลิกที่อุณหภูมิสูงเริ่มจากการปลดปล่อยของสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่น (bound phenolic compound) ตามด้วยการเสื่อมสภาพบางส่วน (partial degradation) และเกิดเป็นอนุพันธ์ชนิดต่างๆ ของสารประกอบฟีนอลิก ในขั้นสุดท้ายเป็นการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกเนื่องจากความร้อน (thermal decomposition)

ตารางที่ 4. 8 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร)	FRAP (มิลลิโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)^{ns}	DPPH (ไมโครโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)
Room temp.	$53.50^{c} \pm 0.71$	0.037 ± 0.007	$10.13^{d} \pm 2.47$
50 ℃	$81.25^{a} \pm 2.47$	0.034 ± 0.009	$78.33^{a} \pm 3.75$
60 ℃	$74.25^{ab} \pm 7.42$	0.034 ± 0.015	$61.92^{b} \pm 0.35$
70 ℃	$67.13^{b} \pm 0.18$	0.031 ± 0.024	$21.83^{c} \pm 2.75$

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c, ...}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4. 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร)	FRAP (มิลลิโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์) ^{ns}	DPPH (ไมโครโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)
Room temp.	$35.25^{b} \pm 0.35$	0.025 ± 0.009	$13.97^{c} \pm 2.42$
50 ℃	$40.25^{a} \pm 2.47$	0.027 ± 0.016	$57.33^{a} \pm 3.40$
60 ℃	$33.63^{b} \pm 0.53$	0.025 ± 0.016	$53.83^{a} \pm 3.51$
70 ℃	$31.88^{b} \pm 1.59$	0.027 ± 0.006	$45.50^{b} \pm 1.00$

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.2.10 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิ-ไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสแสดงดังตารางที่ 4.10 และ 4.11 พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity assay ให้ผลที่สอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กล่าวคือตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มี DPPH radical scavenging activity เพิ่มสูงกว่าตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธีนี้กลับมีค่าลดลงเมื่อทำแห้งตัวอย่างที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP assay มีค่าไม่แตกต่างกันในตัวอย่างที่ศึกษา ($p>0.05$)

Choi *et al.* (2006) เสนอว่าการที่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่ให้ความร้อนอาจเป็นผลจากการที่ความร้อนทำให้เกิดการปลดปล่อยของสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้ความร้อนยังช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา (Maillard reaction product, MRP) อาจมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Amarowicz (2009) ได้รวบรวมข้อมูลจากรายงานวิจัยและสรุปว่ามี MRP หลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยมีทั้งสารที่ยังระบุเอกลักษณ์ไม่ได้ และสารบางชนิดที่ระบุเอกลักษณ์ได้แล้ว เช่น ไบแอเซทิล เมลานอยดิน และสารประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่จับอยู่กับเมลานอยดิน Kuljarachanan *et al.* (2009) ศึกษาการอบแห้งส่วนเหลือจากการบีบน้ำมะนาว (lime residue) ที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส พบว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อยกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

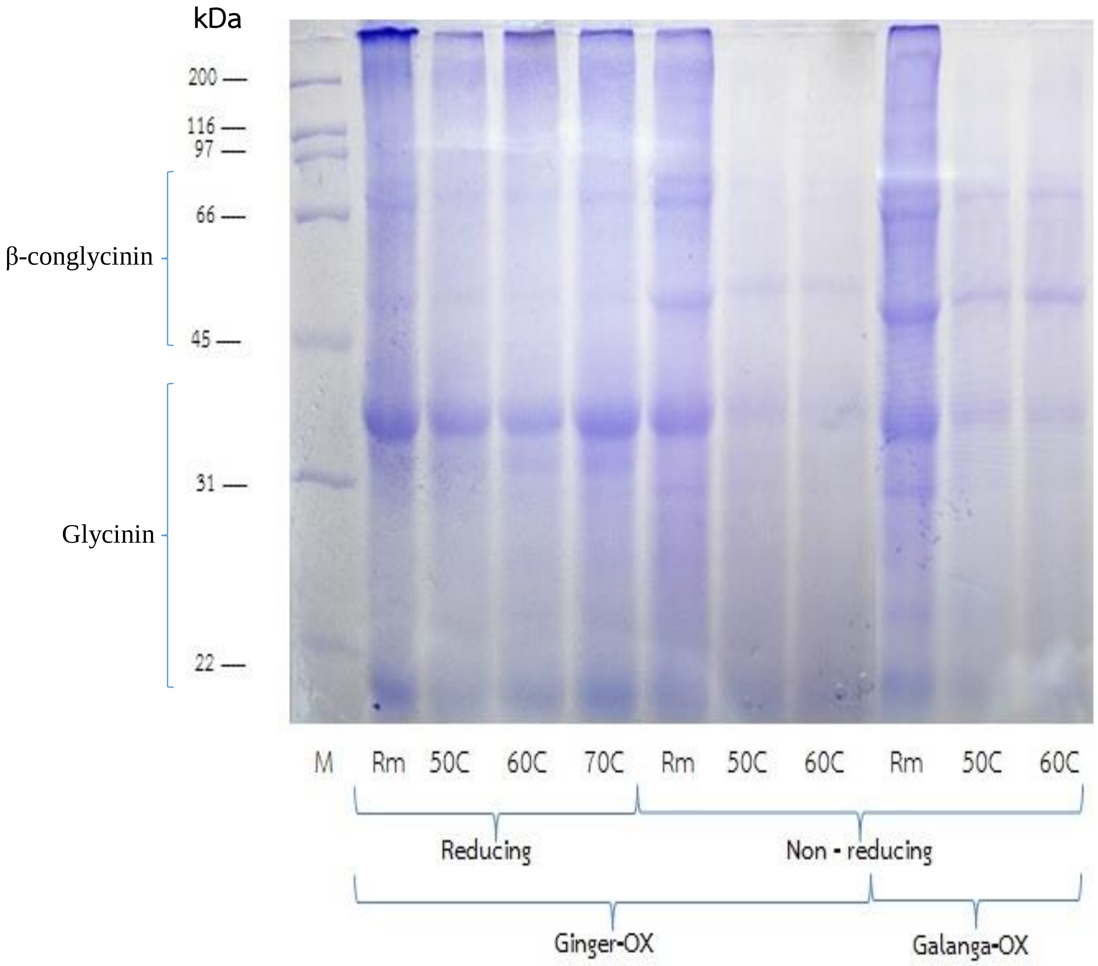
ทั้งนี้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่ศึกษาในขั้นตอนนี้อาจได้รับผลจากทั้งอุณหภูมิในการทำแห้งและระยะเวลาในการทำแห้งที่แตกต่างกันเมื่อทำแห้งที่แต่ละอุณหภูมิ โดยสามารถนำไปศึกษาวิจัยต่อได้

4.2.11 รูปแบบของแถบโปรตีน

การให้ความร้อนแก่โปรตีนในภาวะที่เป็นเบสสามารถส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ ซึ่งทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Jensen, 1959) งานวิจัยในขั้นตอนนี้จึงติดตามการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ในตัวอย่างฟิล์มด้วย non-reducing SDS-PAGE และ reducing SDS-PAGE โดยตัวอย่างฟิล์มที่คัดเลือกมาศึกษาด้วย non-reducing SDS-PAGE ได้แก่ ตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส และตัวอย่างฟิล์มที่คัดเลือกมาศึกษาด้วย reducing SDS-PAGE ได้แก่ ตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.27)

สำหรับตัวอย่างที่ศึกษาโดย non-reducing SDS-PAGE จะเห็นว่าตัวอย่างฟิล์มทั้งที่เติมสารสกัดจากขิงและข่ามีความเข้มของแถบโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองลดลงเมื่ออุณหภูมิการทำแห้งเพิ่มขึ้น แสดงว่าความร้อนสามารถทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมระหว่างโปรตีนเพิ่มขึ้น และเพื่อพิสูจน์ว่าพันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นเป็นพันธะไดซัลไฟด์หรือไม่ จึงนำตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงมาศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนด้วย reducing SDS-PAGE เพื่อเปรียบเทียบ โดยในการทำ reducing SDS-PAGE จะมีการเติม mercaptoethanol ซึ่งจะไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ ทำให้พันธะไดซัลไฟด์แตกออก สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เตรียมด้วยภาวะเดียวกัน พบว่าเมื่อศึกษาด้วย reducing SDS-PAGE แถบโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองมีความเข้มมากกว่าที่ศึกษาด้วย non-reducing SDS-PAGE ผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าพันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญในฟิล์มโปรตีนที่ให้ความร้อน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4. 27 รูปแบบแถบโปรตีนของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์ (Ginger-OX) และสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์ (Galanga-OX) เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) (Rm) และอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งศึกษาโดยใช้ reducing SDS-PAGE และ non-reducing SDS-PAGE โดย M คือ protein molecular weight markers

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

สารสกัดจากขิงและข่าสามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองได้ ในงานวิจัยนี้พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงหรือข่าเท่ากับ 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงหรือข่าเพิ่มถึง 10% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง และโดยทั่วไปพบว่าสารสกัดขิงหรือข่าที่ออกซิไดส์มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสูงกว่าสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ โดยในงานวิจัยนี้พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุด ได้แก่ ฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% ฟิล์มที่เติมสารสกัดข่าที่ไม่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และฟิล์มที่เติมสารสกัดขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% ซึ่งมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงเป็น 1.6, 1.5 และ 1.4 เท่าของตัวอย่างควบคุม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเติมสารสกัดจากขิงและข่ามีผลค่อนข้างน้อยต่อการยืดตัวถึงจุดขาด สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำ และมุมสัมผัสของหยดน้ำกับผิวฟิล์ม นอกเหนือจากความต้านทานแรงดึงขาดแล้ว สมบัติของฟิล์มที่ได้รับผลกระทบจากการเติมสารสกัดจากขิงและข่า ได้แก่ สมบัติเชิงแสง และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยพบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดมีความโปร่งแสงลดลงและมีความเข้มของสีเหลืองเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเติมสารสกัดที่ออกซิไดส์ที่ความเข้มข้นสูง (เช่น 10%) ในแง่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ผลที่ได้เป็นไปในทางตรงกันข้ามกับความแข็งแรงเชิงกล กล่าวคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าแต่ก็มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ จากการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE ยืนยันการเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนในตัวอย่างที่เติมสารสกัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดที่ออกซิไดส์

การศึกษาผลของอุณหภูมิการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% พบว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสสามารถปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มได้ โดยตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดจากขิงและข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% และทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงเป็น 1.17 และ 1.26 เท่าของตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง ตามลำดับ อย่างไรก็ตามอุณหภูมิการอบแห้งมีผลค่อนข้างน้อยต่อการยืดตัวถึงจุดขาด สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำ และมุมสัมผัสของหยดน้ำกับผิวฟิล์ม นอกเหนือจากความต้านทานแรงดึงขาดแล้ว สมบัติของฟิล์มที่ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิการทำแห้ง ได้แก่ สมบัติเชิงแสง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยพบว่าฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิสูง (ได้แก่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส) มีความโปร่งแสงลดลงและมีความเข้มของสีเหลือง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เพิ่มขึ้น สำหรับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่ 50 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay สูงกว่าตัวอย่างฟิล์มที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการทำแห้งเป็น 60 และ 70 องศาเซลเซียส ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay กลับมีค่าลดลงตามอุณหภูมิการทำแห้งที่เพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE ยืนยันการเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนและพบว่าพันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญในฟิล์มโปรตีนที่ให้ความร้อน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

นลินทิพย์ คงแก้ว. (2554). ผลของลิพิดและการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันโปรตีนถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัญชนา อินสวาสดิ์. (2557). การเตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดโดยใช้กรดฟีนอลิกและการบ่ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Amarowicz, R. (2009). Antioxidant activity of Maillard reaction products. *European Journal of Lipid Science and Technology, 111*(2), 109-111.

ASTM. (1999). *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

Balange, A. K., and Benjakul, S. (2009). Effect of oxidised phenolic compounds on the gel property of mackerel (Rastrelliger kanagurta) surimi. *LWT-Food Science and Technology, 42*(6), 1059-1064.

Benzie, I. F., and Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry, 239*(1), 70-76.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology, 28*(1), 25-30.

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., and Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences, 74*(17), 2157-2184.

Chambi, H., and Grosso, C. (2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. *Food research international, 39*(4), 458-466.

Chan, W. E., Lim, Y. Y., and Wong, S. K. (2011). Antioxidant properties of ginger leaves: An overview. *Free Radicals and Antioxidants, 1*(1), 6-16.

Cho, S. Y., and Rhee, C. (2004). Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *LWT-Food Science and Technology, 37*(8), 833-839.

Choi, Y., Lee, S., Chun, J., Lee, H., and Lee, J. (2006). Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (Lentinus edodes) mushroom. *Food Chemistry, 99*(2), 381-387.

Cochran, W. G., and Cox, G. M. (1957). Experimental designs.

Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., and Guilbert, S. (1996). Rheological model for the mechanical properties of myofibrillar protein-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44*(4), 1116-1122.

Dangaran, K., Tomasula, P. M., and Qi, P. (2009). Structure and function of protein-based edible films and coatings *Edible films and coatings for food applications* (pp. 25-56): Springer.

De Carvalho, R., and Grosso, C. (2004). Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids, 18*(5), 717-726.

de Dicastillo, C. L., del Mar Castro-López, M., López-Vilariño, J. M., and González-Rodríguez, M. V. (2013). Immobilization of green tea extract on polypropylene films to control the antioxidant activity in food packaging. *Food research international, 53*(1), 522-528.

de Freitas, V., and Mateus, N. (2001). Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49*(2), 940-945.

Denavi, G., Tapia-Blácido, D., Añón, M., Sobral, P., Mauri, A., and Menegalli, F. (2009). Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. *Journal of Food Engineering, 90*(3), 341-349.

Dias, A. B., Müller, C. M., Larotonda, F. D., and Laurindo, J. B. (2010). Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science, 51*(2), 213-219.

Fernandez, L., de Apodaca, E. D., Cebrián, M., Villarán, M. C., and Maté, J. I. (2007). Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. *European Food Research and Technology, 224*(4), 415-420.

Fujimori, E. (1965). Ultraviolet light-induced change in collagen macromolecules. *Biopolymers, 3*(2), 115-119.

Galietta, G., Di Gioia, L., Guilbert, S., and Cuq, B. (1998). Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. *Journal of Dairy Science, 81*(12), 3123-3130.

Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., and Debeaufort, F. (2012). Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 16*, 148-154.

Gennadios, A., Ghorpade, V., Weller, C. L., and Hanna, M. (1996). Heat curing of soy protein films. *Transactions of the ASAE, 39*(2), 575-579.

Gennadios, A., Rhim, J., Handa, A., Weller, C., and Hanna, M. (1998). Ultraviolet radiation affects physical and molecular properties of soy protein films. *Journal of food science, 63*(2), 225-228.

Ghanbarzadeh, B., and Oromiehi, A. (2008). Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis. *International journal of biological macromolecules, 43*(2), 209-215.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., and Rahmat, A. (2010). Synthesis of phenolics and flavonoids in ginger (Zingiber officinale Roscoe) and their effects on photosynthesis rate. *International journal of molecular sciences, 11*(11), 4539-4555.

Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., and Gómez-Guillén, M. (2009). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering, 92*(1), 78-85.

González, A., Strumia, M. C., and Igarzabal, C. I. A. (2011). Cross-linked soy protein as material for biodegradable films: synthesis, characterization and biodegradation. *Journal of Food Engineering, 106*(4), 331-338.

Guilbert, S., Gontard, N., and Cuq, B. (1995). Technology and applications of edible protective films. *Packaging Technology and Science, 8*(6), 339-346.

Habsah, M., Amran, M., Mackeen, M., Lajis, N., Kikuzaki, H., Nakatani, N., . . . Ali, A. (2000). Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of ethnopharmacology, 72*(3), 403-410.

Han, J., Seo, G., Park, I., Kim, G., and Lee, D. (2006). Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. *Journal of food science, 71*(6), E290-E296.

Harper, B., Barbut, S., Lim, L.-T., and Marcone, M. (2013). Characterization of 'wet'alginate and composite films containing gelatin, whey or soy protein. *Food research international, 52*(2), 452-459.

Haslam, E. (1989). *Plant polyphenols: vegetable tannins revisited*: CUP Archive.

Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., and Chiralt, A. (2004a). Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. *Food Hydrocolloids, 18*(3), 403-411.

Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., and Chiralt, A. (2004b). Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. *Food Hydrocolloids, 18*(4), 647-654.

Hoque, M. S., Benjakul, S., and Prodpran, T. (2011). Properties of film from cuttlefish (Sepia pharaonis) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. *Food Hydrocolloids, 25*(5), 1085-1097.

Jangchud, A., and Chinnan, M. (1999). Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. *LWT-Food Science and Technology, 32*(2), 89-94.

Jensen, E. V. (1959). Sulfhydryl-disulfide interchange. *Science, 130*(3385), 1319-1323.

Jiang, Y., Tang, C.-H., Wen, Q.-B., Li, L., and Yang, X.-Q. (2007). Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 8*(2), 218-225.

Kanatt, S. R., Rao, M., Chawla, S., and Sharma, A. (2012). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids, 29*(2), 290-297.

Kim, K. M., Weller, C. L., Hanna, M. A., and Gennadios, A. (2002). Heat curing of soy protein films at selected temperatures and pressures. *LWT-Food Science and Technology, 35*(2), 140-145.

Kuljarachanan, T., Devahastin, S., and Chiewchan, N. (2009). Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. *Food Chemistry, 113*(4), 944-949.

Kunte, L., Gennadios, A., Cuppett, S., Hanna, M., and Weller, C. L. (1997). Cast films from soy protein isolates and fractions 1. *Cereal Chemistry, 74*(2), 115-118.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature, 227*, 680-685.

Larrauri, J. A., Rupérez, P., and Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45*(4), 1390-1393.

Lim, L.-T., Mine, Y., and Tung, M. A. (1998). Transglutaminase cross-linked egg white protein films: tensile properties and oxygen permeability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46*(10), 4022-4029.

Liu, K. (2012). *Soybeans: chemistry, technology, and utilization*: Springer.

Lu, M., Yuan, B., Zeng, M., and Chen, J. (2011). Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food research international, 44*(2), 530-536.

Ly, Y.-P., Johnson, L., and Jane, J. (1998). Soy protein as biopolymer *Biopolymers from renewable resources* (pp. 144-176): Springer.

Ma, W., Tang, C.-H., Yang, X.-Q., and Yin, S.-W. (2013). Fabrication and characterization of kidney bean (Phaseolus vulgaris L.) protein isolate–chitosan composite films at acidic pH. *Food Hydrocolloids, 31*(2), 237-247.

Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P., and Porta, R. (2003). Preparation and mechanical properties of edible pectin–soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. *Journal of Biotechnology, 102*(2), 191-198.

Mauri, A. N., and Añón, M. C. (2006). Effect of solution pH on solubility and some structural properties of soybean protein isolate films. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 86*(7), 1064-1072.

McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience, 27*(12), 1254-1255.

Michon, T., Chenu, M., Kellershon, N., Desmadril, M., and Guéguen, J. (1997). Horseradish peroxidase oxidation of tyrosine-containing peptides and their subsequent polymerization: a kinetic study. *Biochemistry, 36*(28), 8504-8513.

Miranda, M., Vega-Gálvez, A., López, J., Parada, G., Sanders, M., Aranda, M., . . . Di Scala, K. (2010). Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (Chenopodium quinoa Willd.). *Industrial Crops and Products, 32*(3), 258-263.

Monedero, F. M., Fabra, M. J., Talens, P., and Chiralt, A. (2009). Effect of oleic acid–beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *Journal of Food Engineering, 91*(4), 509-515.

Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., and Hadian, M. (2012). Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT-Food Science and Technology, 46*(2), 477-484.

Nampoothiri, S. V., Esakkidurai, T., and Pitchumani, K. (2015). Identification and quantification of phenolic compounds in Alpinia galanga and Alpinia calcarata and its relation to free radical quenching properties: a comparative study. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 21*(2), 140-147.

Norajit, K., Kim, K. M., and Ryu, G. H. (2010). Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering, 98*(3), 377-384.

Nouri, L., and Nafchi, A. M. (2014). Antibacterial, mechanical, and barrier properties of sago starch film incorporated with betel leaves extract. *International journal of biological macromolecules, 66*, 254-259.

Nuthong, P., Benjakul, S., and Prodpran, T. (2009). Effect of phenolic compounds on the properties of porcine plasma protein-based film. *Food Hydrocolloids, 23*(3), 736-741.

O'Brien, P. J., Siraki, A. G., and Shangari, N. (2005). Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. *Critical reviews in toxicology, 35*(7), 609-662.

Orliac, O., Rouilly, A., Silvestre, F., and Rigal, L. (2002). Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. *Polymer, 43*(20), 5417-5425.

Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C., and Jackson, M. G. (2005). Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering, 70*(2), 205-210.

Park, S. K., Hettiarachchy, N. S., Ju, Z., and Gennadios, A. (2002). Formation and properties of soy protein films and coatings. *Protein-based films and coatings*, 978-1587.

Pelissari, F. M., Andrade-Mahecha, M. M., do Amaral Sobral, P. J., and Menegalli, F. C. (2013). Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (Musa paradisiaca). *Food Hydrocolloids, 30*(2), 681-690.

Pérez-Mateos, M., Montero, P., and Gómez-Guillén, M. (2009). Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids, 23*(1), 53-61.

Peterson, G. L. (1982). Determination of total protein. *Methods in enzymology, 91*, 95-119.

Pierpoint, W. (1969). o-Quinones formed in plant extracts. Their reaction with bovine serum albumin. *Biochemical Journal, 112*(5), 619-629.

Prodpran, T., Benjakul, S., and Phatcharat, S. (2012). Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. *International journal of biological macromolecules, 51*(5), 774-782.

Rawel, H. M., Czajka, D., Rohn, S., and Kroll, J. (2002). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International journal of biological macromolecules, 30*(3), 137-150.

Rayner, M., Ciolfi, V., Maves, B., Stedman, P., and Mittal, G. S. (2000). Development and application of soy-protein films to reduce fat intake in deep-fried foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 80*(6), 777-782.

Rhim, J. W., Gennadios, A., Handa, A., Weller, C. L., and Hanna, M. A. (2000). Solubility, tensile, and color properties of modified soy protein isolate films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(10), 4937-4941.

Sabato, S., Nakamurakare, N., and Sobral, P. (2005). Effect of Ionizing Radiation on Tilapia (Oreochromis niloticus) Protein Biofilms.

Sabli, F., Mohamed, M., Rahmat, A., Ibrahim, H., and Abu Bakar, M. (2012). Antioxidant properties of selected Etlingera and Zingiber species (Zingiberaceae) from Borneo Island. *Int J Bio Chem, 6*, 1-9.

Salgado, P. R., Ortiz, S. E. M., Petruccelli, S., and Mauri, A. N. (2010). Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. *Food Hydrocolloids, 24*(5), 525-533.

Sangnate, S., Mahavanich, T., and Duangmal, K. (2013). Effect of phenolic-containing extracts from mulberry *Morus alba* L. leaves on properties of soy protein isolate film.

Seo, A., and Morr, C. (1984). Improved high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic acids and isoflavonoids from soybean protein products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 32*(3), 530-533.

Siripatrawan, U., and Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids, 24*(8), 770-775.

Soazo, M., Perez, L. M., Rubiolo, A. C., and Verdini, R. A. (2013). Effect of freezing on physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids, 31*(2), 256-263.

Strauss, G., and Gibson, S. M. (2004). Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. *Food Hydrocolloids, 18*(1), 81-89.

Stuchell, Y. M., and Krochta, J. M. (1994). Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. *Journal of food science, 59*(6), 1332-1337.

Su, J.-F., Yuan, X.-Y., Huang, Z., and Xia, W.-L. (2010). Properties stability and biodegradation behaviors of soy protein isolate/poly (vinyl alcohol) blend films. *Polymer Degradation and Stability, 95*(7), 1226-1237.

Tang, C.-H., and Jiang, Y. (2007). Modulation of mechanical and surface hydrophobic properties of food protein films by transglutaminase treatment. *Food research international, 40*(4), 504-509.

Tang, C.-H., Jiang, Y., Wen, Q.-B., and Yang, X.-Q. (2005). Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. *Journal of Biotechnology, 120*(3), 296-307.

Tang, C.-H., Wu, H., Chen, Z., and Yang, X.-Q. (2006). Formation and properties of glycinin-rich and β-conglycinin-rich soy protein isolate gels induced by microbial transglutaminase. *Food research international, 39*(1), 87-97.

Tang, C.-H., Xiao, M.-L., Chen, Z., Yang, X.-Q., and Yin, S.-W. (2009). Properties of cast films of vicilin-rich protein isolates from Phaseolus legumes: Influence of heat curing. *LWT-Food Science and Technology, 42*(10), 1659-1666.

Wang, Y., Xiong, Y. L., Rentfrow, G. K., and Newman, M. C. (2013). Oxidation promotes cross-linking but impairs film-forming properties of whey proteins. *Journal of Food Engineering, 115*(1), 11-19.

Waterhouse, A. L. (2005). Consumer labels can convey polyphenolic content: Implications for public health. *Journal of Immunology Research, 12*(1), 43-46.

Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J., and Zhang, Q. (2013). Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids, 32*(1), 42-51.

Xu, B., Yuan, S., and Chang, S. (2007). Comparative Studies on the Antioxidant Activities of Nine Common Food Legumes Against Copper-Induced Human Low-Density Lipoprotein Oxidation In Vitro. *Journal of food science, 72*(7), S522-S527.

Zayas, J. F. (1997). Introduction *Functionality of proteins in food* (pp. 1-5): Springer.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์

ก.1 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ผลิตภัณฑ์ของ: บริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด, กรุงเทพฯ

ข้อมูลวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์:

ความชื้น	5.36%
โปรตีน	92.0%
ค่าความเป็นกรดเบส	7.01
Sieve test (ผ่านตะแกรงขนาด 100 ยูเอสเมช)	ไม่ต่ำกว่า 90%

ข้อมูลวิเคราะห์จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์:

Standard plate count	<100 CFU/g
Salmonella	Negative
Escherichia coli	Negative

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงจากวิธีของ Waterhouse (2005)

<u>รีเอเจนต์</u>

สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว

1. ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. นำสารละลายมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 2

<u>การเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก</u>

1. เตรียม stock solution ของกรดแกลลิกเข้มข้น 5000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายกรดแกลลิกปริมาณ 0.5 กรัม ในเมทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

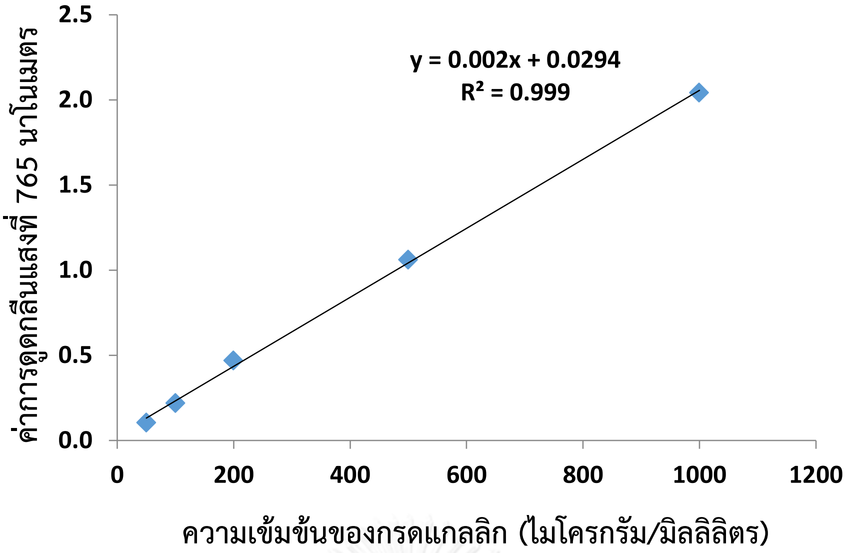
2. เตรียม standard solution ของกรดแกลลิกเข้มข้น 50, 100, 200, 500 และ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จาก stock solution ในข้อ 1

3. ปิเปตต์ standard solution ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บรรจุลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

4. เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ปิเปตต์สารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที

5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้ถึงขีด 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

6. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง (รูปที่ ข.1)



รูปที่ ข. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

<u>การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง</u>

1. ปิเปตต์สารสกัดตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร บรรจุลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ปิเปตต์สารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที

3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้ถึงขีด 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

ข.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996)

<u>รีเอเจนต์</u>

สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอซีเทต (พีเอช 3.6) เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

1. ชั่งโซเดียมแอซีเทตปริมาณ 40.82 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 700 มิลลิลิตร
2. ปรับพีเอชของสารละลายด้วยเกลเชียลแอซีติกให้มีค่าเท่ากับ 3.6

3. ปรับปริมาตรของสารละลายในข้อ 2 ให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
หมายเหตุ สารละลายบัฟเฟอร์นี้ควรปรับพีเอชทุกครั้งเมื่อต้องการใช้

สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาณ 0.0324 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร

สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

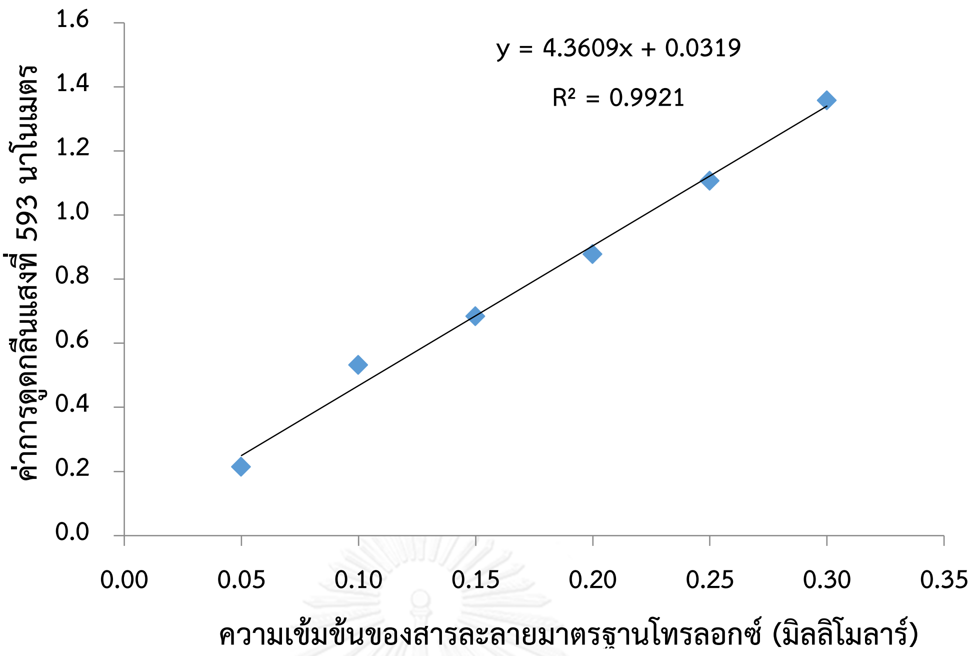
1. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยเจือจางกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% ปริมาตร 0.3316 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร
2. ละลาย TPTZ ปริมาณ 0.0312 กรัม ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในข้อ 1 ประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

สารละลาย FRAP

ปิเปตต์สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอซีเทตที่เตรียมไว้ข้างต้นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร
หมายเหตุ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ สารละลาย TPTZ และสารละลาย FRAP ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อต้องการใช้

การเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP

1. เตรียม stock solution ของโทรลอกซ์ 1 มิลลิโมลาร์ โดยละลายโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ในเมทานอล 99.9% แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. เตรียม standard solution ของโทรลอกซ์เข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 มิลลิโมลาร์ จาก stock solution ในข้อ 1
3. นำ standard solution ของโทรลอกซ์ไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP และสร้างกราฟเทียบมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นโทรลอกซ์และค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร (รูปที่ ข.2)



รูปที่ ข. 2 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP

<u>การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP</u>

1. ปิเปตต์สารละลาย FRAP ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร บรรจุลงในหลอดทดลอง
2. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP ในหลอดทดลอง แล้วเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

ข.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995)

<u>รีเอเจนต์</u>

สารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution ของ DPPH โดยละลาย DPPH ปริมาณ 12 มิลลิกรัม ในเมทานอล 99.9% แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร สารละลายนี้สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ไม่เกิน 5 วัน

2. เตรียม daily solution ของ DPPH จากสารละลาย stock solution ในข้อ 1 โดยปิเปตต์ stock solution มา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 99.9% จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 1.2×10^{-4} โมลาร์ เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

<u>การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป DPPH</u>

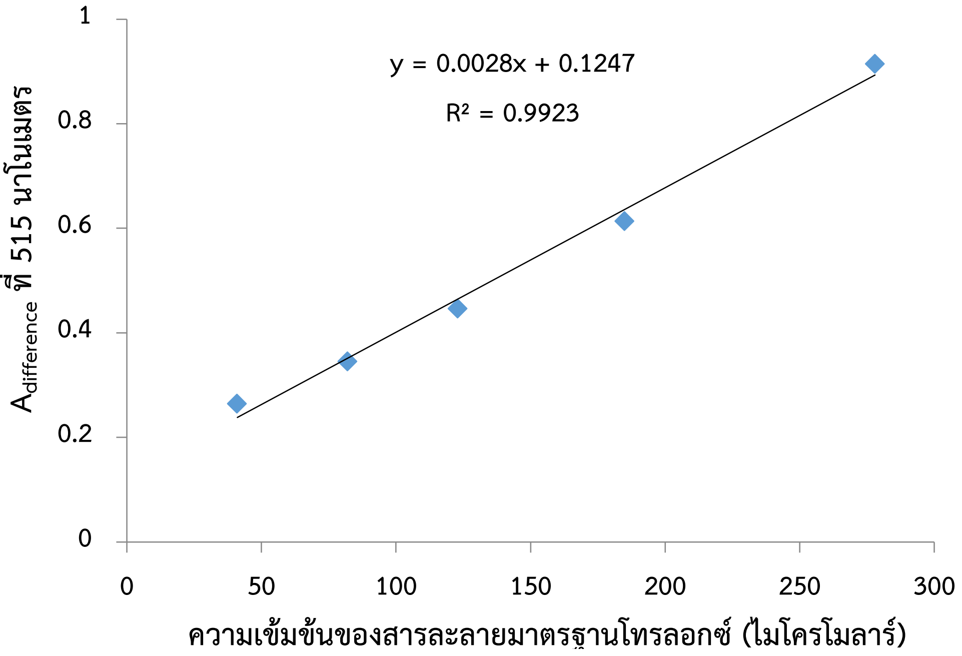
1. ปิเปตต์ตัวอย่างมา 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH เข้มข้น 1.2×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 950 ไมโครลิตร บรรจุลงในคิวเวตต์ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่ใช้โทรลอกซ์เป็นสารละลายมาตรฐาน

2. นำของผสมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 515 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวอ้างอิง โดยสีของตัวอย่างจะเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีเหลืองอ่อน

3. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ($A_{initial}$ ควรมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.1) มาลบออกด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (A_{final}) ได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{difference}$) ตามสมการที่ (ข.1)

$$A_{difference} = A_{initial} - A_{final} \qquad \text{(ข.1)}$$

4. นำ $A_{difference}$ ของตัวอย่างไปหาค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยเทียบกับ $A_{difference}$ ของกราฟเทียบมาตรฐานของโทรลอกซ์ (รูปที่ ข.3)

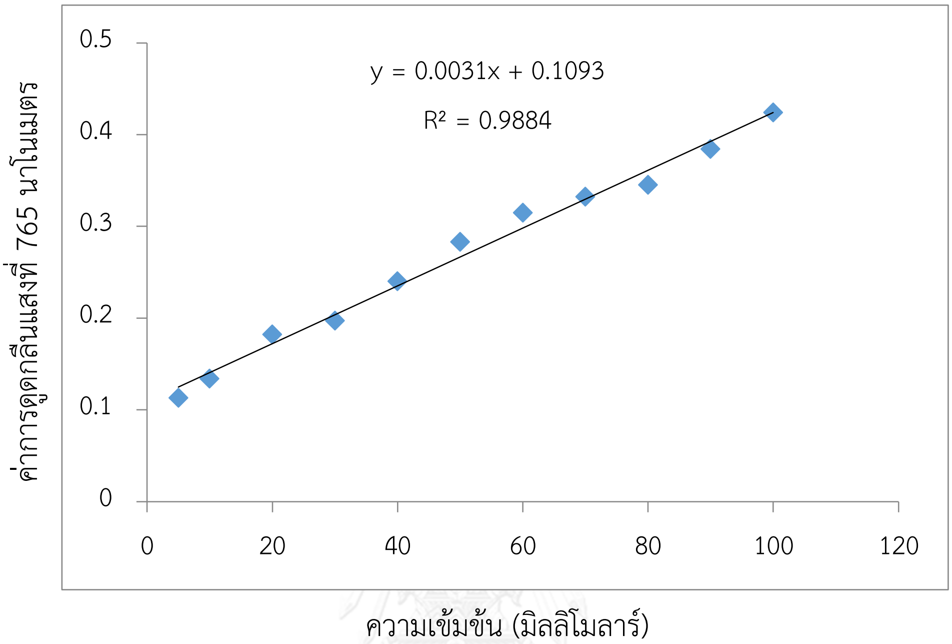


รูปที่ ข. 3 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป DPPH radical scavenging activity

ภาคผนวก ค

กราฟเทียบมาตรฐาน

ค. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry



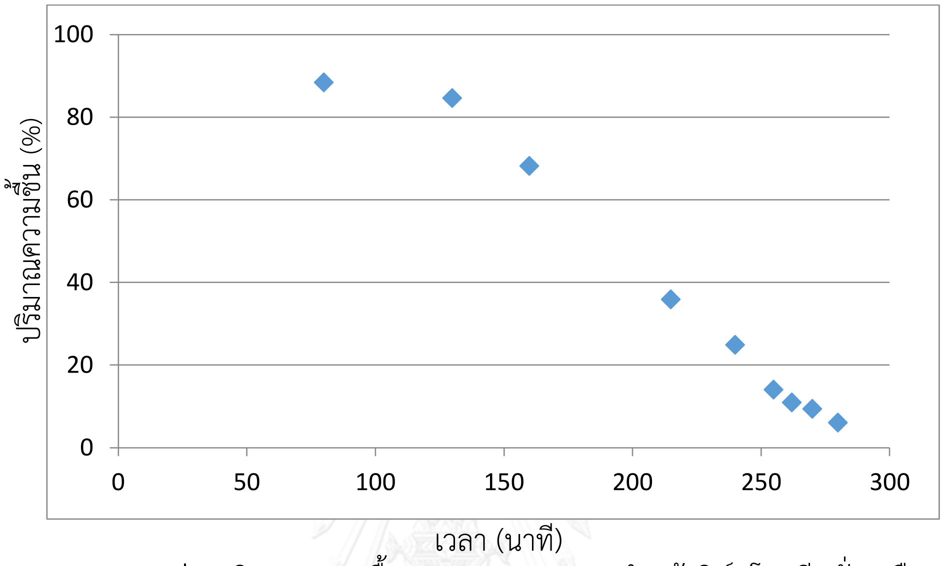
รูปที่ ค. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ง

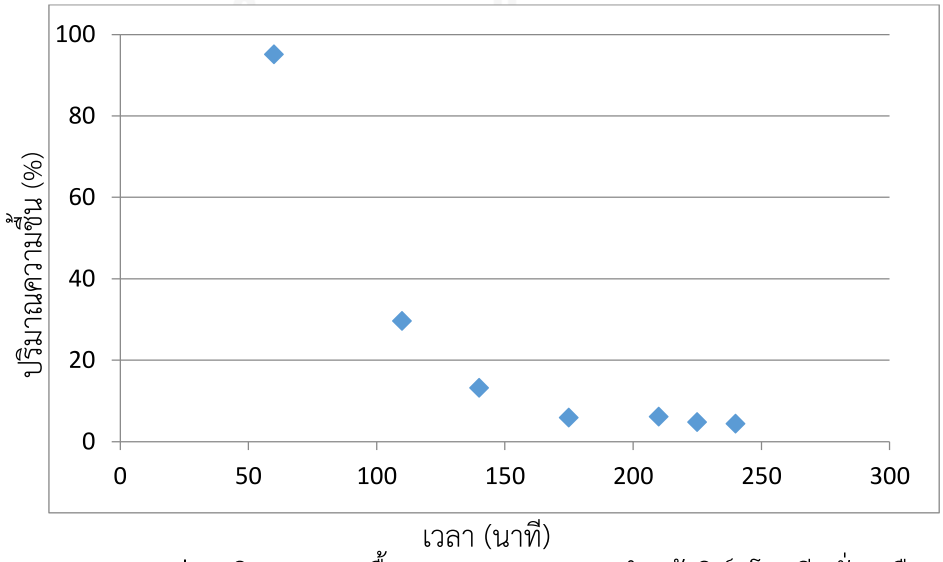
กราฟการทำแห้ง

ง. 1 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



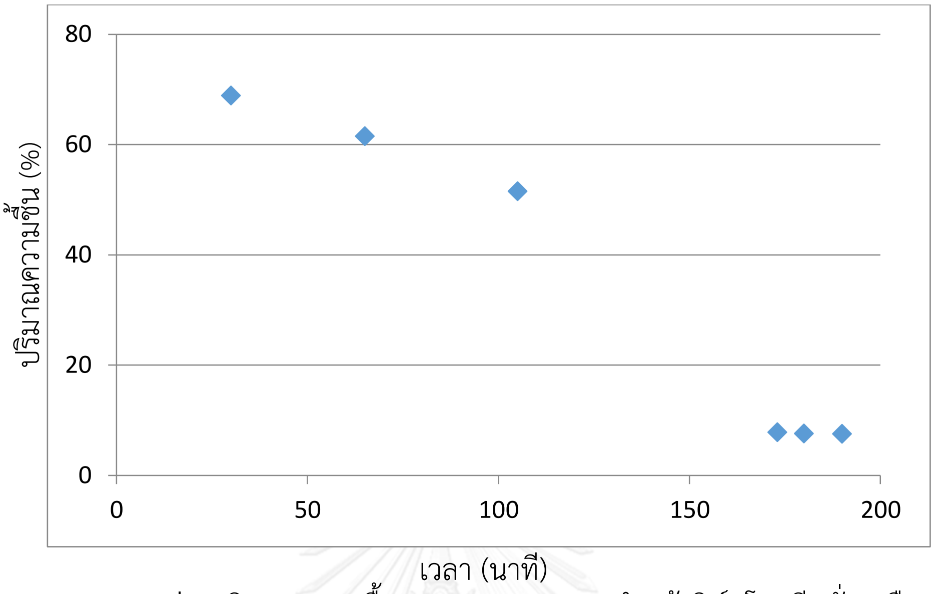
รูปที่ ง. 1 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ง. 2 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



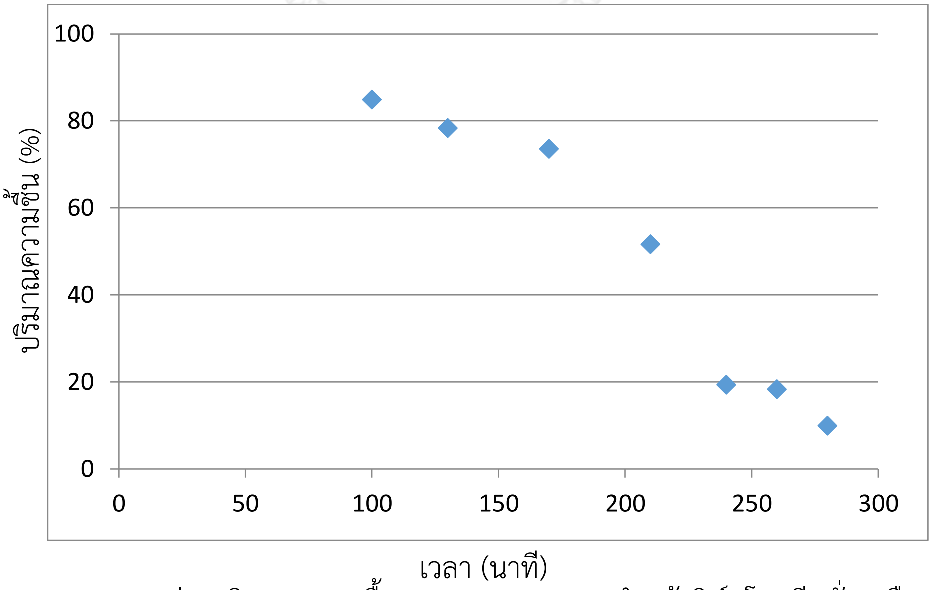
รูปที่ ง. 2 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ง. 3 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



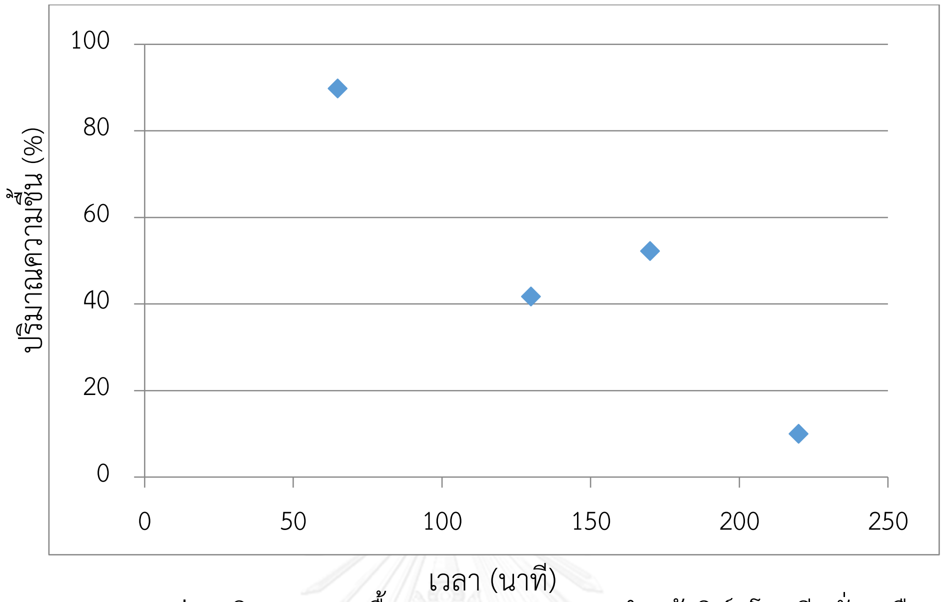
รูปที่ ง. 3 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ง. 4 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



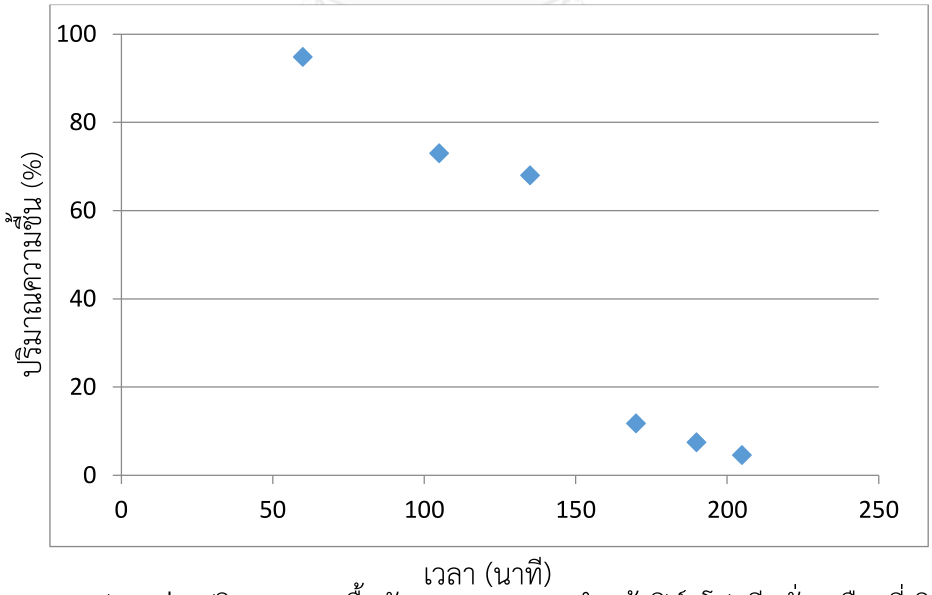
รูปที่ ง. 4 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ง. 5 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ ง. 5 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นและระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ง. 6 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นกับระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



รูปที่ ง. 6 กราฟระหว่างปริมาณความชื้นกับระยะเวลาการทำแห้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ปริมาณ 5% เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก จ

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ จ. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)
Control	0	0.770^{f} ± 0.049
Ginger-UNOX	2	0.866^{def} ± 0.049
	5	1.026^{bcd} ± 0.145
	10	0.829^{ef} ± 0.038
Ginger-OX	2	0.917^{cdef} ± 0.003
	5	1.049^{ab} ± 0.079
	10	0.939^{cdef} ± 0.045
Galanga-UNOX	2	1.049^{bc} ± 0.164
	5	1.154^{ab} ± 0.141
	10	0.836^{ef} ± 0.041
Galanga-OX	2	1.000^{bcde} ± 0.032
	5	1.252^{a} ± 0.088
	10	1.060^{bc} ± 0.069

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c...}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ จ. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)^{ns}
Control	0	168.89 ± 24.43
Ginger-UNOX	2	188.28 ± 65.07
	5	214.25 ± 28.92
	10	191.60 ± 30.69
Ginger-OX	2	215.27 ± 42.69
	5	238.03 ± 59.67
	10	211.15 ± 33.89
Galanga-UNOX	2	249.92 ± 82.62
	5	231.54 ± 68.76
	10	183.71 ± 29.47
Galanga-OX	2	240.37 ± 31.08
	5	213.16 ± 7.53
	10	214.58 ± 30.39

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (mg mm/Pa h m^2)
Control	0	$0.776^{b} \pm 0.08$
Ginger-UNOX	2	$0.921^{ab} \pm 0.058$
	5	$0.912^{ab} \pm 0.044$
	10	$0.938^{ab} \pm 0.069$
Ginger-OX	2	$0.876^{ab} \pm 0.064$
	5	$0.928^{ab} \pm 0.13$
	10	$0.905^{ab} \pm 0.077$
Galanga-UNOX	2	$1.023^{ab} \pm 0.163$
	5	$1.029^{ab} \pm 0.044$
	10	$0.917^{ab} \pm 0.203$
Galanga-OX	2	$0.806^{ab} \pm 0.085$
	5	$0.805^{ab} \pm 0.257$
	10	$1.071^{a} \pm 0.045$

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 4 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	ความสามารถในการละลายน้ำ (%)^{ns}
Control	0	86.57 ± 4.25
Ginger-UNOX	2	84.93 ± 8.29
	5	81.01 ± 9.88
	10	81.40 ± 4.69
Ginger-OX	2	85.87 ± 1.86
	5	81.21 ± 3.57
	10	77.80 ± 7.55
Galanga-UNOX	2	87.34 ± 5.10
	5	86.94 ± 6.13
	10	86.50 ± 4.01
Galanga-OX	2	77.81 ± 27.41
	5	75.61 ± 10.74
	10	73.33 ± 24.45

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ จ. 5 มุมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	มุมสัมผัส (องศา)
Control	0	35.40^{bcd} ± 15.24
Ginger-UNOX	2	33.64^{cd} ± 3.57
	5	35.42^{bcd} ± 4.29
	10	32.05^{d} ± 1.33
Ginger-OX	2	32.96^{cd} ± 0.46
	5	39.59^{abcd} ± 0.87
	10	37.56^{bcd} ± 1.71
Galanga-UNOX	2	33.11^{cd} ± 2.17
	5	43.18^{abc} ± 3.49
	10	42.95^{abcd} ± 2.97
Galanga-OX	2	36.83^{bcd} ± 5.74
	5	45.70^{ab} ± 14.61
	10	48.32^{a} ± 4.72

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c, ...}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ จ. 6 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงหรือข่าที่ไม่ออกซิไดส์ (-UNOX) และที่ออกซิไดส์ (-OX) เข้มข้น 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง

ตัวอย่างฟิล์ม	ปริมาณสารสกัด (%)	ร้อยละของแสงส่องผ่าน
Control	0	78.11^{ab} ± 0.89
Ginger-UNOX	2	73.63^{abc} ± 3.70
	5	68.24^{c} ± 1.06
	10	67.50^{c} ± 0.78
Ginger-OX	2	79.56^{a} ± 1.08
	5	72.29^{abc} ± 8.99
	10	66.60^{c} ± 2.83
Galanga-UNOX	2	76.70^{ab} ± 3.85
	5	71.72^{bc} ± 0.20
	10	68.85^{c} ± 5.90
Galanga-OX	2	71.93^{bc} ± 2.30
	5	72.37^{abc} ± 5.28
	10	53.85^{d} ± 5.16

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c, ...}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ จ. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)
Room temp.	1.170[b] ± 0.171
50 °C	1.167[b] ± 0.072
60 °C	1.164[b] ± 0.080
70 °C	1.372[a] ± 0.088

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ. 8 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)
Room temp.	1.252[b] ± 0.088
50 °C	1.179[b] ± 0.057
60 °C	1.239[b] ± 0.043
70 °C	1.574[a] ± 0.065

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 9 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)^{ns}
Room temp.	209.90 ± 39.78
50 °C	184.65 ± 10.47
60 °C	185.82 ± 45.64
70 °C	175.11 ± 37.12

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ. 10 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)^{ns}
Room temp.	213.16 ± 7.53
50 °C	222.70 ± 30.93
60 °C	223.33 ± 24.46
70 °C	223.12 ± 1.35

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 11 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (mg mm/Pa h m^2) ^{ns}
Room temp.	0.928 ± 0.130
50 °C	0.850 ± 0.255
60 °C	1.027 ± 0.169
70 °C	0.900 ± 0.150

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ. 12 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (mg mm/Pa h m^2) ^{ns}
Room temp.	0.805 ± 0.257
50 °C	0.932 ± 0.094
60 °C	0.874 ± 0.116
70 °C	0.913 ± 0.032

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 13 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ความสามารถในการละลายน้ำ (%)
Room temp.	81.21[a] ± 3.57
50 °C	82.87[a] ± 12.68
60 °C	76.06[a] ± 1.25
70 °C	59.46[b] ± 4.68

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ จ. 14 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ความสามารถในการละลายน้ำ (%) [ns]
Room temp.	75.61 ± 10.74
50 °C	80.97 ± 7.61
60 °C	75.84 ± 12.75
70 °C	65.12 ± 3.49

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[ns] ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 15 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์ เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	มุมสัมผัส (องศา) ^{ns}
Room temp.	39.59 ± 0.87
50 °C	37.02 ± 3.94
60 °C	37.17 ± 11.54
70 °C	40.71 ± 14.43

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ตารางที่ จ. 16 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์ เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	มุมสัมผัส (องศา) ^{ns}
Room temp.	45.7 ± 14.61
50 °C	42.51 ± 10.41
60 °C	45.34 ± 8.35
70 °C	48.54 ± 5.56

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ. 17 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากขิงที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ร้อยละของแสงส่องผ่าน ^{ns}
Room temp.	72.44 ± 8.79
50 °C	64.94 ± 3.38
60 °C	64.73 ± 3.10
70 °C	66.23 ± 4.08

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ. 18 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากข่าที่ออกซิไดส์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส)

ตัวอย่างฟิล์ม	ร้อยละของแสงส่องผ่าน
Room temp.	72.37^{a} ± 5.28
50 °C	73.93^{a} ± 7.11
60 °C	63.25^{b} ± 1.29
70 °C	62.42^{b} ± 1.89

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวบัณฑิตา จิตตประไพ เกิดเมื่อวันที่ 9 มกราคม พ.ศ. 2533 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2554 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555

นางสาวบัณฑิตา จิตตประไพ ได้นำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ในหัวข้อ Effect of ginger extract on mechanical, barrier and optical properties of soy protein film ในการประชุมวิชาการ The 2016 Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2016) ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค ระหว่างวันที่ 9–11 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University